АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIV. ВЫП. 3

МАЙ—ИЮНЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1955

JUL 1955

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

ВЛИЯНИЕ АЭРАЦИИ НА РАЗМНОЖЕНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ACETOBACTER SUBOXYDANS

З. Г. Разумовская и Н. М. Митюшова

Винберг [2] указывает, что скорость потребления кислорода одной клеткой объемом около 1 μ^3 при 37° примерно равна 500—1000 $\times$ 10^{-9} мм^3 O_2 в час. В то же время растворимость кислорода в воде невелика: при 20° в 100 мл растворяется 0,004339 г кислорода, а при повышении температуры растворимость снижается [3]. Поэтому в культуре аэробных микроорганизмов очень часто создается диспропорция между притоком кислорода и потребностью в нем, и большая часть клеток страдает от недостатка кислорода. Естественно, что дополнительная аэрация, увеличивая приток кислорода, создает условия, благоприятные для жизнедеятельности этих микроорганизмов. Поэтому так называемый глубинный, или погруженный метод, т. е. выращивание микроорганизмов в толще жидкости в условиях интенсивной аэрации, привлекает внимание как для разрешения научных вопросов, так и для производственных целей, в технологии биохимических производств, где он и находит широкое применение.

Представляет несомненый интерес использование глубинного метода для окислительных процессов, вызываемых уксуснокислыми бактериями, в частности для процесса окисления сорбита в сорбозу. Исследования [4, 5, 8, 9] показывают, что процесс окисления сорбита в условиях усиленной аэрации протекает значительно быстрее. Однако данные о продолжительности процесса приводятся различными исследователями разные, что, несомненно, обусловливается особенностями культуры бактерий, используемой питательной средой и условиями подачи воздуха. Наши наблюдения, проведенные с различными штаммами сорбозных бактерий, показали, что они различно реагируют на изменения аэрации. В то время как одни штаммы отзывчивы на усиление аэрации и быстро заканчивают окисление сорбита, другие при этих условиях, которые, очевидно, для них оказываются недостаточно благоприятными, проводят процесс в более длительные сроки. Уткин [7] в работе с Acetobacter ketogenum наблюдал, что продувание воздуха даже задерживало развитие культуры и процесс окисления сорбита. Работая с одним и тем же штаммом, мы наблюдали, что воздействие усиленной аэрации определяется условиями постановки опытов. Некоторые данные этих наблюдений мы приводим в настоящем сообщении.

Опыты проводились с культурой Acetobacter suboxydans, штамм № 1. Для глубинного выращивания использовались стеклянные сосуды с пористым стеклянным дном. Схема опытной установки указана на рис. 1. Ватный фильтр, увлажнитель и опытный сосуд помещались в термостате с температурой 30°. Из опытного сосуда воздух поступал в двугорлую склянку с крепкой серной кислотой для поглощения влаги, а оттуда в реометр, при помощи которого устанавливалась определенная скорость тока воздуха. Из реометра воздух поступал в предохранительную бутыль емкостью в 25 л для сглаживания толчков, создаваемых водоструйным насосом, а оттуда через регулятор разрежения — к насосу. Регулятор разрежения позволял поддерживать постоянную скорость тока воздуха независимо от изменения напора в водопроводной сети. Предохранитель-

ная бутыль и регулятор разрежения предложены Базыриной и Чесноковым [1]. Скорость тока воздуха в этих опытах составляла 40 мл в минуту на 1 мл среды.

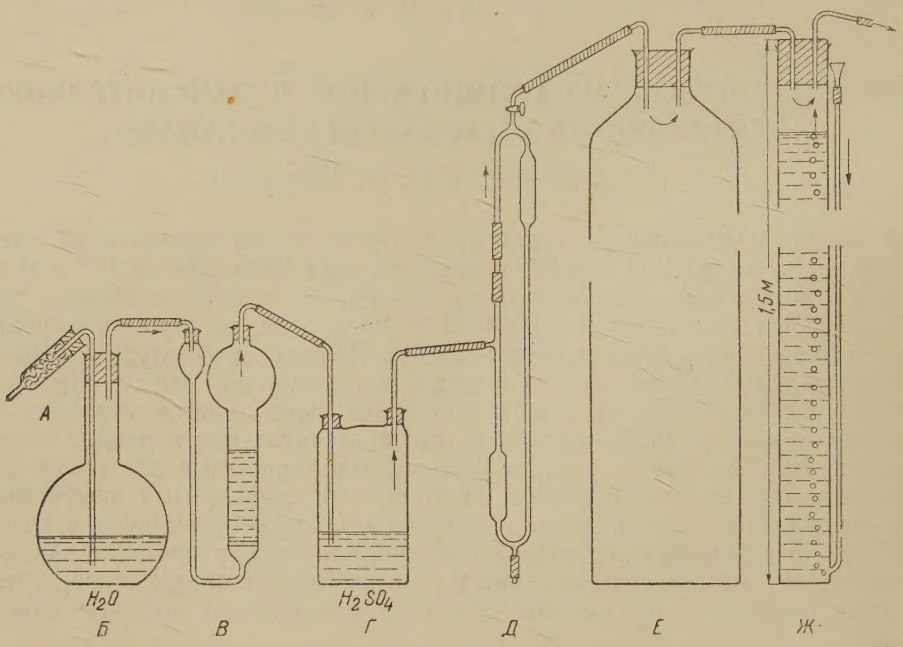


Рис. 1. Схема установки для выращивания бактерий глубинным способом:

А — ватный фильтр; *Б* — увлажнитель; *В* — опытный сосуд; *Г* — склянка с серной кислотой; *Д* — реометр; *Е* — предохранительная бутыль; *Ж* — регулятор разрежения

Опыты по выращиванию Acetobacter suboxydans поверхностным методом проводились в колбах, где высота слоя среды не превышала 1 см. Количество среды как в колбах, так и в сосудах — 20 мл. В качестве среды использована дрожжевая вода (0,5% сухих веществ) с 10% сорбита. Температура опытов 30°. Опыты снимались через 5, 10, 14, 18 и 24 часа. Определялось количество бактерий методом подсчета колоний и количество сорбозы по методу Бертрана. На основании этих данных вычислялось количество сорбозы, которое приходится на одну жизнеспособную бактерию в момент снятия опыта.

Для посева бралась двухсуточная культура, выращенная поверхностным способом (в пробирках).

Таблица 1

Размножение и образование сорбозы при глубинном выращивании („большой посев")

Продолжительность опыта в часах	Количество бактерий в 1 мл в миллионах		Количество сорбозы	
	начальное	в момент снятия опыта	в 1 мл в мг	приходящееся на одну бактерию в 10^{-8} мг
5	62	175	3,4	2,0
10	45	1040	21,7	2,1
14	59	3900	81,9	2,1
18	41	3530	92,5	2,6
24	47	3350	98,2	2,9

Для выяснения вопроса о влиянии добавочной аэрации в зависимости от количества посевного материала, количество вносимой посевной культуры было или 5% от объема среды, что мы условно называем «большой» посев, или 0,005%, что составляло «малый посев». В таблицах приводятся данные в средних цифрах из пяти опытов.

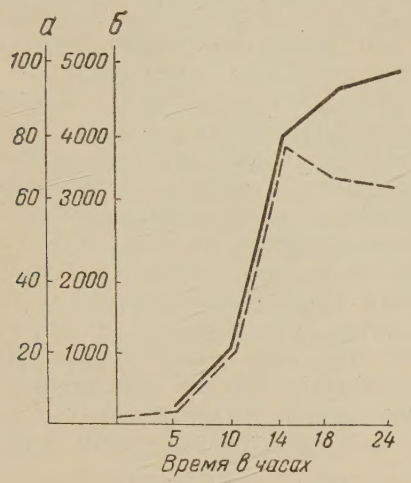


Рис. 2. Размножение и образование сорбозы Acetobacter suboxydans при глубинном выращивании:

а — количество сорбозы в мг в 1 мл (сплошная линия); *б* — количество бактерий в миллионах в 1 мл (прерывистая линия)

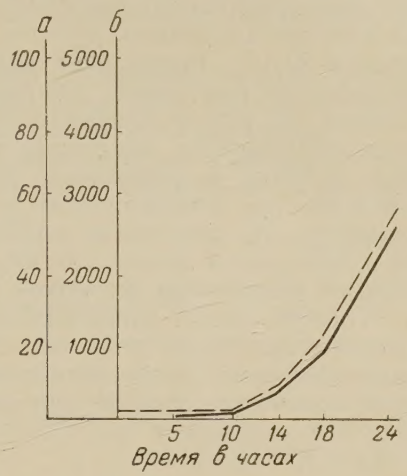


Рис. 3. Размножение и образование сорбозы Acetobacter suboxydans при поверхностном выращивании:

а — количество сорбозы в мг в 1 мл (сплошная линия); *б* — количество бактерий в миллионах в 1 мл (прерывистая линия)

Как видно из таблицы, в условиях усиленной аэрации при «большом посеве», уже в первые 5 часов количество бактерий увеличивается в два-три раза. Наиболее интенсивно размножение протекает в последующие 5 часов, через 14 часов размножение замедляется, а через 18—24 часа наблюдается некоторое снижение количества бактерий.

Соответственно нарастанию количества бактерий в течение 14 часов увеличивается и количество сорбозы. Далее, когда кривая количества вырастающих на сорбитном агаре бактерий идет вниз, образование сорбозы продолжается (рис. 2). Количество сорбозы, приходящееся на одну жизнеспособную клетку в первые 14 часов, составляет $2{,}0—2{,}1 \times 10^{-8}$ мг.

Результаты опытов при поверхностном способе выращивания приведены в табл. 2 и на рис. 3.

Таблица 2

Размножение и образование сорбозы при поверхностном выращивании („большой посев")

Продолжительность опыта в часах	Количество бактерий в 1 мл в миллионах		Количество сорбозы	
	начальное	в момент снятия опыта	в 1 мл в мг	приходящееся на одну бактерию в 10^{-8} мг
5	59	63	0,8	1,0
10	40	116	1,8	1,5
14	50	354	5,8	1,6
18	32	1210	19,4	1,6
24	45	2880	54,9	1,8

Процесс размножения в этом случае идет более медленно, и только к 10 часам количество бактерий увеличивается в два-три раза. К 24 часам количество бактерий при поверхностном способе все еще меньше, чем количество бактерий, определяемое при глубинном способе через 14 часов.

Процесс окисления сорбита в условиях поверхностного выращивания также идет значительно медленнее. За 18 часов окисляется 9% сорбита, тогда как при глубинном способе за это время окисление достигает в среднем 92,5%. Вычисление количества сорбозы, приходящегося на одну бактерию, показывает, что при поверхностном способе эта величина составляет $1{,}6 \cdot 10^{-8}$ мг. Сопоставляя данные глубинного и поверхностного способа выращивания, мы видим, что при усиленной аэрации укорачивается лагфаза и ускоряется размножение. Процессы размножения и окисления при поверхностном и глубинном выращивании протекают параллельно. Но количество сорбозы, приходящееся на одну жизнеспособную бактерию в момент снятия опыта, несколько отличается. Сорбозы образуется больше при усиленной аэрации. Сравнение скоростей образования сорбозы одной бактериальной клеткой, вычисленных по формуле Бьюкенена, еще более четко показывает, что под влиянием усиленной аэрации бактерии более интенсивно окисляют сорбит: при глубинном способе количество сорбозы, образованное одной жизнеспособной бактерией в час, составляет $6{,}3—7{,}5 \times 10^{-9}$ мг, а при поверхностном способе $2{,}5—3{,}5 \times 10^{-9}$ мг.

В опытах с «малым посевом» получены данные, указанные в табл. 3 и 4.

Таблица 3

Размножение и образование сорбозы при глубинном выращивании („малый посев")

Продолжительность опыта в часах	Количество бактерий в 1 мл в тысячах		Количество сорбозы	
	начальное	в момент снятия опыта	в 1 мл в мг	приходящееся на одну бактерию в 10^{-8} мг
5	29	59	0*	—
10	37	740	0	—
24	52	140 000	4,5	3,1
29	42	1 820 000	36,7	2,0

* По Бертрану не определяется.

Таблица 4

Размножение и образование сорбозы при поверхностном способе выращивания („малый посев")

Продолжительность опыта в часах	Количество бактерий в 1 мл в тысячах		Количество сорбозы	
	начальное	в момент снятия опыта	в 1 мл в мг	приходящееся на одну бактерию в 10^{-8}
10	74	1 390	0*	—
24	48	67 000	0,8	1,2
29	61	580 000	9,2	1,6

* По Бертрану не определяется.

В этих опытах за первые 10 часов при глубинном выращивании количество бактерий увеличивается в 20 раз, при поверхностном — в 18. Влияние аэрации за этот период почти не сказывается, и только через 24 часа под влиянием аэрации наблюдается ускорение размножения и повышение окисления. Через 29 часов это различие становится значительным: при глубинном способе количество бактерий увеличивается в 43 000 раз, а при поверхностном — в 9500.

Таким образом, при «малом посеве» усиленная аэрация оказывает влияние только тогда, когда количество бактерий в среде значительно увеличивается, и когда, видимо, создается недостаток кислорода.

Различие в количестве образовавшейся сорбозы выявляется в этих опытах через 24 часа; при глубинном способе образуется 4,5 мг сорбозы в 1 мл, при поверхностном — меньше 1 мг. В этой серии опытов количество сорбозы, приходящееся на одну бактерию при глубином выращивании, также выше, чем при поверхностном. Таким образом, усиленная аэрация не только ускоряет размножение, но сказывается и на окислительной деятельности бактерий, повышая ее в условиях как «большого», так и «малого» посевов. Михлин, Голышева и Кеппен [6], рассматривая влияние аэрации на окислительную деятельность сорбозных бактерий, делают вывод, что интенсивная аэрация не увеличивает окислительной способности каждой бактериальной клетки. Эти исследования были проведены в особых условиях, когда среда доводилась до состояния тонких пленок, процесс проводился циклически, и, в связи со своеобразием постановки опыта, не удавалось установить с достаточной четкостью соотношение количества бактерий и образовавшейся сорбозы. Кроме того, определение количества бактерий в работе Михлина и др. производилось при помощи счетной камеры, мы же определяли количество бактерий, пользуясь методом подсчета колоний. Возможно, что этим и объясняется расхождение в выводах. При микроскопическом подсчете учитываются все бактерии, находящиеся в среде: способные к дальнейшему развитию, покоящиеся и мертвые. В связи с этим возникает вопрос, в какой мере в окислении участвуют бактерии, неспособные к дальнейшему развитию на питательной среде. Это подлежит дальнейшему исследованию.

Таблица 5

Выход сорбозы в зависимости от скорости тока воздуха в первые часы опыта

Количество воздуха в первые 5 часов в л/час. (на 200 мл)	Количество сорбозы через 18 часов в мг на 1 мл
45	92,3
12	92,2
10	86,5
5	77,8
Без подачи воздуха в первые 2,5 часа	61,5

Поскольку наши наблюдения выяснили, что влияние аэрации сказывается различно в зависимости от количества бактерий в среде, то возник вопрос: какое количество воздуха необходимо в течение первых часов процесса окисления сорбита, когда количество бактерий в среде невелико?

Опыты были проведены в сосуде бóльших размеров, с 200 мл среды. Засев производился 10 мл односуточной культуры, выращенной в колбе поверхностным способом.

Предварительными опытами было установлено, что и в этих условиях постановки опыта благоприятной является скорость тока воздуха 45 л в час на 200 мл среды (т. е. 3,7 мл в минуту на 1 мл среды). При этом процесс заканчивался через 18 часов с выходом сорбозы в 92—93%. Снижение количества воздуха уменьшало процент выхода сорбозы, увеличение же не вызывало ускорения процесса окисления сорбита.

Опыты с изменением скорости подачи воздуха были поставлены в тех

же условиях, причем в первые 5 часов количество воздуха в отдельных опытах менялось, в последующие же часы оно устанавливалось во всех опытах одинаковым — 45 л/час на 200 мл среды.

Таким образом, видно, что аэрация нужна уже в первые часы развития культуры. Уменьшение аэрации до 5 л в час значительно снижает выход сорбозы, но уменьшение до 12 л в час обеспечивает нормальное течение процесса (количество сорбозы, образовавшееся за первые 5 часов, при аэрации со скоростями 45 л/час и 12 л/час было одинаковым).

Были проведены опыты с дифференцированной подачей воздуха и в последующие часы развития бактерий. Так, при аэрации в первые 5 часов со скоростью 12 л/час, в последующие 4 часа — 20 л/час и в остальное время — 45 л/час за 18 часов было получено 90,3—92,2% сорбозы.

Таким образом, возможно проведение процесса окисления сорбита в сорбозу при меняющейся скорости тока воздуха. Приблизительное соотношение количества воздуха в указанные сроки 1 : 2 : 5.

Выводы

1. Усиленная аэрация среды оказывает влияние как на размножение, так и на окислительную деятельность Acetobacter suboxydans.

2. Влияние усиленной аэрации на размножение зависит от количества бактерий. При внесении в среду большого количества бактерий (десятки миллионов в 1 мл) усиленная аэрация ускоряет размножение уже в первые часы развития культуры; процесс размножения при глубинном способе заканчивается за 14 часов, тогда как при поверхностном способе выращивания и к 24 часам количество бактерий не достигает максимума. При «малом» посеве (десятки тысяч бактерий в 1 мл среды) влияние аэрации сказывается только тогда, когда количество бактерий увеличится в значительной степени.

Таким образом, вопрос о влиянии аэрации необходимо рассматривать в связи с количеством бактерий в среде.

3. Усиленная аэрация не только ускоряет размножение, но сказывается и на окислительной деятельности бактерий, повышая ее как в условиях «большого», так и «малого» посевов.

4. Наблюдения показали возможность проводить процесс окисления сорбита в сорбозу при меняющейся скорости прохождения воздуха. В начальный период скорость прохождения через среду воздуха может быть значительно меньшей, чем в момент массового нарастания количества микроорганизмов.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Получено 12.XII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базырина Е. Н. и Чесноков В. А. Цит. по Н. Н. Иванову. Методы физиологии и биохимии растений. Сельхозгиз, 1946.
2. Винберг Г. Г. Интенсивность дыхания бактерий. Усп. совр. биологии, XXI, 401, 1946.
3. Имшенецкий А. А. Микробиологические процессы при высоких температурах. Изд-во АН СССР, 1944.
4. Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Окисление сорбита складчатыми расами уксуснокислых бактерий. Микробиология, XXIII, 159, 1954.
5. Митюшова Н. М. Изучение газообмена уксуснокислых бактерий при окислении сорбита в сорбозу. Диссертация ЛГУ, 1951.
6. Михлин Э. Д., Голышева М. Г. и Кеппен В. А. Влияние условий аэрации на развитие уксуснокислых кетогенных микроорганизмов. Микробиология, XXI, 521, 1952.
7. Уткин Л. М. О новом микроорганизме из группы уксуснокислых бактерий. Микробиология, VI, 421, 1937.
8. Эпштейн Р. Б., Козловский Г. И. и Михайловская Б. Ц. Окисление сорбита в сорбозу в глубинных слоях. Консультация по пищевой промышленности, вып. 2 (27), стр. 25, 1947.
9. Wells R. A., Stubbs J. J., Lockwood L. B. a. Roe E. T. Production submerged growth of Acetobacter suboxydans. Ind. Ing. Chem., **29**, 1385, 1937.

ЯВЛЕНИЕ ХИЩНИЧЕСТВА У СИНЕЗЕЛЕНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

С. В. Горюнова

Не так давно в литературе был описан новый интересный факт в питании бактерий, обнаруженный Имшенецким и Кузюриной [7]. Изучая экологию почвенных бактерий, они столкнулись с явлением хищничества у отдельных представителей этой группы организмов. При этом интересно, что вначале бактерии-хищники убивают свою жертву, а потом уже лизируют ее клетки. В литературе, посвященной питанию бактерий,— это первые наблюдения. Возможно, что в будущем будут вскрыты и другие, еще неизвестные ученым, формы микроорганизмов с аналогичным типом питания.

Явления хищничества у высших растений известны уже давно. Это так называемые насекомоядные или плотоядные растения. Эти организмы способны нормально развиваться и без готовых органических веществ. Однако наряду с этой возможностью они имеют еще специальные приспособления в виде так называемых ловчих аппаратов (кувшинчиков, пузырьков и т. д.), при помощи которых ловят мелких животных. Переваривание этих животных происходит, повидимому, при помощи кислот и протеолитических ферментов, выделяемых ловчими аппаратами.

Анимальный, или животный, способ питания известен также и для водорослей типа Flagellatae (Киселев, Зинова, Курсанов [8]). Мы здесь имеем в виду только те формы, которым свойственно одновременно и наличие хлорофилла.

На основании своих наблюдений, связанных с изучением физиологии и биохимии водорослей в лабораторных культурах, т. е. в условиях более близкого контакта исследователя с изучаемыми объектами, мы считаем себя вправе высказать предположение, что анимальный способ питания, аналогичный способу питания насекомоядных растений, свойственен, повидимому, не только отдельным представителям Flagellatae, но и многим другим видам водорослей.

Особенно интересным и показательным объектом в этом смысле служит синезеленая водоросль Oscillatoria splendida Grew, с которой мы работаем уже 12 лет.

Как известно по работам многих авторов (Арнольди [1], Голлербах и др. [2, 3], Курсанов и др. [9, 11]), этот организм обладает способностью к движению, настолько специфичному, что в литературе оно получило название осцилляторного. Осуществляется это движение при помощи одностороннего выделения слизистых веществ. Под микроскопом, даже при малых увеличениях, очень легко наблюдать беспрерывное и довольно сильное по амплитуде колебание кончиков нитей осциллятории из стороны в сторону, аналогичное качанию маятника. Наряду с этими равномерными, хотя и частыми, колебательными движениями, отдельным нитям колонии свойственно неожиданное на первый взгляд, но очень резкое пружинистое движение, похожее на движение стрекательных органов многих беспозвоночных животных.

Движение осциллятории легко можно наблюдать и без микроскопа. Выращивая культуры этой водоросли в эрленмееровских колбочках на минеральной питательной среде (Горюнова [4]), мы неоднократно наблюдали, что при неблагоприятных условиях (низкие температуры, истоще-

ние питательной среды, перегрев и др.) вся колония, подчас гигантская, сжимается в небольшой плотный комочек шаровидной, чаще эллипсоидальной формы. В таком виде этот организм перезимовывает и в водоеме. Если неблагоприятные условия носят продолжительный характер и вызывают полный автолиз культуры, то процесс самопереваривания начинается с поверхности шара и выражен в пожелтении нитей, а затем и полном их обесцвечивании. Углеводная строма в виде стекловидной массы годами сохраняется в лабораторных условиях, а в природных водоемах находится в виде студенистых масс, часто составляющих основу бареэкины или обволакивающих подводные предметы (Горюнова [5]).

При нормальных условиях колония осциллятории обычно располагается сгустком на поверхности питательной среды. От сгустка отходят во все стороны, по бокам и в середине до дна колбы, тончайшие пленки из нитей водорослей.

Всегда было интересно наблюдать, как при помощи этих пленок обильный осадок минеральных солей, выпавших из раствора при стерилизации, обволакивался этими пленками и поднимался наверх к основному сгустку, представляющему центр колонии, оставляя совершенно прозрачную жидкость.

Продолжая свои наблюдения за этим интересным организмом, мы в своих последующих опытах прибегли просто к встряхиванию такой полноценной, достигшей пышного роста, культуры и во всех случаях наблюдали быстрое сжатие распластавшейся по стенкам колбы культуры в один маленький, плотный, почти черно-зеленый пушистый комочек, плотный настолько, что его трудно было разорвать пинцетом. Через час-два, а иногда и меньше, колония осциллятории принимала прежний, нормальный вид.

Такое закономерное проявление реакции данного организма к внешним воздействиям, напоминающее мимозу, вызвало у нас предположение о том, что образование сгустков этих организмов, как в лабораторных культурах, так и в водоемах, не является следствием механического образования гигантских колоний в результате деления клеток водоросли, а есть проявление определенного, исторически сложившегося в природных условиях сообщества индивидуумов данного вида. Действительно, разбивая эти сгустки осциллятории на качалке, иногда в течение суток, мы всегда затем наблюдали соединение разрозненных нитей, и даже их мелких обрывков, в общий плотный комок.

Естественно, что после такого сильного воздействия культура некоторое время имела угнетенный вид и комочек расправлялся не сразу, а через несколько дней, но все же колония при вновь созданных благоприятных условиях принимала свой прежний, нормальный вид.

Но если быстрая реакция на внешние раздражители казалась нам объяснимой с точки зрения самосохранения организма, то совершенно непонятным в поведении колонии осциллятории было постоянное для всех культур затягивание в сетку из нитей водоросли осадка минеральных солей. Было неясно: случаен этот факт и проявляется только в лаборатории или обычен, вернее, естественен для данного организма? Если обычен, то каково его назначение?

В литературе часто указывается на то, что многие синезеленые водоросли являются индикатором на наличие загрязнения или во всяком случае богатства органических веществ в водоеме (Разумов [12]).

Наши прежние исследования по выяснению пригодности различных питательных сред для осциллятории (Горюнова [4]) показали, что этот вид хорошо переносит небольшие количества соединений углеводного характера и хиреет, а затем и погибает, при наличии в среде белковых соединений (в виде дрожжевого отвара, МПБ и т. д.). Увеличение дозы неорганических соединений азота всегда значительно повышало «урожай» этих водорослей. Вместе с тем при выделении чистых культур, в отличие

от зеленых водорослей (некоторых протококковых), мы столкнулись с фактом гибели и через два-три пересева. Очевидно, чисто минеральная среда, даже с добавлением микроэлементов, не была для них полноценной. Добавление в среду стерильных вытяжек из дрожжей или из тех бактерий, которые являются почти постоянными их спутниками, не дало положительных результатов.

Получалось непонятное совпадение противоположных явлений: с одной стороны, наши многолетние наблюдения всегда показывали сильное фитонцидное действие осциллятории на бактерии, в том числе и на «спутника» (Горюнова [4]). Такие же данные были получены Разумовым [12] и Гуревичем [6]. С другой стороны, если в культурах присутствовали хотя бы ничтожные количества бактерий (в миллионы раз меньше, чем число клеток водоросли),— рост водоросли не прекращался.

Долгое время методически разрешить этот вопрос не представлялось возможным. Объяснение этого парадокса было найдено нами после проведения опыта совместной культуры водоросли и бактерии-«спутника». Осуществить это удалось следующим образом. Как и обычно (Горюнова [4]), водоросли были посеяны в пробирки с минеральной питательной средой. Посев производился комочками из старой нестерильной культуры. После того как организм оправился (отрыв нитей от колонии в жидкой среде всегда затруднителен и связан с механическим повреждением части клеток водрости), в среду (на 10 мл) прибавлялась одна капля спиртового экстракта (70°) из каких-либо натуральных источников органических веществ: плодов или овощей. Разведение спирта до 70° соответствует той концентрации его, при которой обычно извлекаются из растительных объектов растворимые углеводы. В дальнейших опытах выяснилось, что достаточно прибавление и одного спирта.

После прибавления экстракта или спирта в пробирках начиналось бурное развитие бактерий — мутился весь раствор. По мере истощения в среде легко усвояемых для бактерий питательных веществ культура водорослей начинала усиленно развиваться, образуя очень тонкую пленку из нитей, которая приобретала форму мешка или сетки. Мутный раствор с бактериями оказывался в середине этой ловушки. Постепенно поднимаясь к центру колонии, живая сетка стягивалась, а питательная среда под ней приобретала полную прозрачность.

Таким образом, при помощи этих опытов выяснилась не только причина прижизненных выделений летучих веществ типа фитонцидов у Oscillatoria splendida Grew, но и сам механизм их действия.

В данном случае выделение этих веществ является не средством защиты, а нападения. Чувствительные кончики нитей, находясь в беспрерывном колебательном движении, наталкиваясь в среде на какой-либо предмет, испытывают раздражение. Как результат этого возникает резкое пружинчатое движение нити водоросли, которое передается соседним нитям. Плотно соединяясь, они окружают предмет. Очевидно, в это же время идет и усиленное выделение фитонцидов, убивающих жертву. Как нами уже установлено в предыдущих работах (Горюнова [4]), интенсивное выделение летучих веществ, входящих в состав фитонцидов осцилляторий (муравьиный альдегид, уксусная кислота, пеларгоновая кислота и др.), происходит только в молодой культуре. Наличие же осадка в применяемой нами минеральной среде, повидимому, всегда стимулировало выделение этих веществ. Возможно, что в живую «сетку» в природных условиях затягиваются уже убитые фитонцидами бактериальные, а возможно, и другие живые организмы. Во всяком случае, если поместить колонию этой водоросли в банку со свежим сетяным сбором, содержащим как фито-, так и зоопланктон, а затем прибавить минеральной питательной среды, то через несколько дней, а иногда и недель, будет развиваться только одна осциллятория.

Неясным остается вопрос: какие вещества при этом используются?

Восполняет ли организм водоросли только потребность в веществах типа витаминов или в голодных условиях водоема хищничество доставляет ему пищу как органического, так и минерального состава? В отношении высших растений в этом вопросе также нет ясности. Существует мнение, что в основном для насекомоядных растений ловля насекомых является только дополнительным источником азотистого питания. С другой стороны, некоторые авторы (Курсанов и Голенкин [10]) не могут не признать, что в связи с жизнью большинства этих растений на болотистых и торфянистых почвах, бедных минеральными солями, возможно усвоение таким способом и неорганических соединений. Нам кажется также, что будет правильнее признать возможность более полного использования организмами-хищниками химических соединений, входящих в состав тела организмов-жертв.

Выводы

1. На основании проведенных исследований высказано предположение, что явление хищничества свойственно не только жгутиковым водорослям, но значительно шире распространено в природе и встречается у многих видов водорослей.

2. Возможно также предположить, что у многих Dinoflagellatae жгутики служат не только для передвижения в водной толще, но также играют роль, аналогичную действию стрекательных органов у беспозвоночных животных.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 28.IX.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арнольди В. И. Введение в изучение низших организмов. 1925.
2. Голлербах М. М. К вопросу о составе и распределении водорослей в почвах. 1936.
3. Голлербах М. М., Косинская Е. К. и Полянский В. И. Синезеленые водоросли. Определитель пресноводных водорослей СССР, вып. 2. Изд-во «Советская наука», М., 1953.
4. Горюнова С. В. Химический состав и прижизненное выделение Oscillatoria splendida Grew. Изд-во АН СССР, М.—Л., 1950.
5. Горюнова С. В. Применение метода люминесцентной микроскопии для определения живых и мертвых клеток водорослей. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. 2, 1952.
6. Гуревич Ф. А. Материалы о фитонцидах водных и прибрежных растений. Авторефераты Ин-та эксперим. медицины АМН СССР. 1949.
7. Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Питание микробов клетками других микроорганизмов. ДАН СССР, XVII, № 3, 1949.
8. Киселев И. А., Зинова А. Д. и Курсанов Л. И. Водоросли. Определитель низших растений, т. II. Изд-во «Советская наука», М., 1953.
9. Курсанов Л. И. Низшие растения. М., 1945.
10. Курсанов Л. И. и Голенкин М. И. Курс ботаники. Учпедгиз, М., 1937.
11. Курсанов Л. И., Забелина М. М., Мейер К. И., Ролл Я. В. и Цешинская Н. И. Водоросли. Определитель низших растений, т. I. Изд-во «Советская наука», М., 1953.
12. Разумов А. С. Микробиальный планктон воды. Автореферат. АМН СССР, 1953.

ВЫРАЩИВАНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В ФИЛЬТРАТАХ ДРУГИХ ВИДОВ ЭТИХ БАКТЕРИЙ

Н. В. Петерсон

С целью изменения природы клубеньковых бактерий Красильников [3, 4] засевал в фильтраты старых культур клубеньковых бактерий клевера и люцерны клубеньковые бактерии других видов, а также различные споровые и бесспоровые почвенные бактерии. По его мнению, после длительного пребывания в фильтратах большинство клубеньковых, а также два вида неклубеньковых бактерий приобрели вирулентность соответственно к клеверу или люцерне. Израильский [1], повторяя опыты Красильникова, не подтвердил его результатов.

При подробном рассмотрении работ Красильникова мы пришли к выводу, что, кроме предложенного им объяснения о прививке новых свойств вирулентности клубеньковым бактериям при выращивании их в фильтратах других видов этих бактерий, допустимо также и другое предположение. Оно основывается на возможности регенерации фильтрующихся форм из фильтрата под влиянием засеянных в него клубеньковых бактерий других видов, играющих роль «кормилок».

В опытах Красильникова имеются данные в пользу нашего предположения. Так, прививка новой вирулентности чаще всего происходила при выращивании клубеньковых бактерий в фильтрате самой старой, двухмесячной культуры. Мы объясняем это тем, что в старых культурах больше фильтрующихся форм, способных к регенерации.

В пользу нашего предположения говорит также то, что для приобретения новых свойств требовалось много времени (четыре месяца). Как известно, в большинстве случаев регенерация фильтрующихся форм происходит очень медленно. В связи с вышеизложенным можно объяснить, почему Израильский не получил таких же результатов, как Красильников: он произвольно сократил срок культивирования клубеньковых бактерий одного вида в фильтрате клубеньковых бактерий другого вида до двух месяцев.

Опыты Красильникова по прививке новых свойств вирулентности неклубеньковым бактериям, в которых бактерий приходилось несколько раз пассировать через бобовые растения, также говорят в пользу нашего предположения; последовательные пересевы через животных (или растения) являются общепринятым методом регенерации фильтрующихся форм.

В связи с выдвинутым предположением мы прежде всего попытались воспроизвести опыты Красильникова, а затем получить данные для подтверждения нашего предположения о природе наблюдаемых изменений.

Мы выращивали клубеньковые бактерии вики, люпина, эспарцета (по два штамма), а также чины и гороха (по одному штамму) в фильтратах старых культур клубеньковых бактерий клевера. Для получения фильтратов клубеньковые бактерии клевера культивировались на жидкой среде Мазе, а затем фильтровались через свечу Беркефельда (N) и частично через фильтр Зейтца. Фильтровались культуры трех возрастов: 30-дневные, 40-дневные и пятимесячные. Фильтраты ставились на семь дней в термостат при 25°. Затем из них делался высев на среду Мазе — для контроля на отсутствие бактериальных клеток, и на жидкие и полужид-

кие среды с рибонуклеиновой (РНК) или дезоксирибонуклеиновой (ДРНК) кислотами и дрожжевым автолизатом [5] — для выявления фильтрующихся форм. Исследуемые клубеньковые бактерии других видов, засеянные в фильтраты клубеньковых бактерий клевера, выдерживались семь суток в термостате при 25°. Остальное время (до восьми месяцев) они содержались при комнатной температуре. Как контроль в фильтрат засевалась исходная культура клубеньковых бактерий клевера.

Через 10, 50 суток и три, пять, восемь месяцев фильтраты, с засеянными в них клубеньковыми бактериями, проверялись на вирулентность к клеверу и бобовому растению, соответствующему данной культуре клубеньковых бактерий.

Проверка вирулентности производилась: 1) на стерильном песке с питательным раствором Прянишникова (без азота), 2) в колбах Эрленмейера по методу Кореняко [2]. Перед посевом семена стерилизовались с поверхности. Контролем служили семена, инокулированные исходным фильтратом и засевавшиеся одновременно с опытными. Опыт учитывался через месяц после посева.

Результаты проверки вирулентности фильтратов одно- и пятимесячной культур клубеньковых бактерий клевера с засеянными в них клубеньковыми бактериями других видов приведены в табл. 1 и 2. Близкие результаты получены также при культивировании клубеньковых бактерий в фильтрате 40-суточной культуры клубеньковых бактерий клевера.

Как видно из табл. 1 и 2, в некоторых случаях фильтрат культуры клубеньковых бактерий клевера с засеянными в него клубеньковыми бактериями других видов приобретал способность вызывать образование клубеньков на корнях клевера.

Однако эта способность отмечалась не ранее чем через три месяца после начала культивирования в фильтрате клубеньковых бактерий другого вида.

В большинстве случаев при инокуляции этими же фильтратами клубеньки образовались и у тех бобовых растений, которым были специфичны клубеньковые бактерии, засеянные в фильтрат.

Таблица 1

Результаты инокуляции бобовых растений фильтратом одномесячной культуры клубеньковых бактерий клевера, в который засевались клубеньковые бактерии других видов

Клубеньковые бактерии	Через 10 суток после посева	Через 50 суток после посева	Через 3 месяца после посева	Через 8 месяцев после посева
Люпина, штамм 1	+/—	—	—	—
» » 2	+/—	—	—	—
Фасоли, штамм 1	+/—	+/—	+/+	—
» » 2	+/—	+/—	+/+—	+/—
Гороха	+/—	+—/—	—	—/+—
Чины	+/—	+/—	+/+	+/—
Вики, штамм 1	+/—	+/—	+/+	+/+—
» » 2	+/—	+/—	+/—	+/—
Клевера контроль	+	+	+	—
Клевер заражен чистым фильтратом	—	—	—	—

Примечание. В числителе показан результат заражения бобового растения, для которого специфичны данные клубеньковые бактерии, засеянные в фильтрат, в знаменателе — результат заражения клевера. + клубеньки; +— муфтообразные утолщения; — нет клубеньков.

Например, фильтрат клубеньковых бактерий клевера через три месяца после засева в него клубеньковых бактерий чины вызывал образование клубеньков как у клевера, так и у чины (табл. 1).

Таблица 2

Результаты инокуляции бобовых растений фильтратом пятимесячной культуры клубеньковых бактерий клевера, в который засевались клубеньковые бактерии других видов

Клубеньковые бактерии	Через 3 месяца после посева	Через 5 месяцев после посева	Через 7 месяцев 20 суток после посева
Люпина, штамм 2	—/+—	—	—
Фасоли „ 1	+/—	+/—	—/+
„ „ 2	+/+—	+/—	
Гороха	—/+	—	
Чины	+/—	+/—	+
Вики, штамм 1	+/—	+/—	—/+—
„ „ 2	+/+—	+/—	—
Эспарцета	—	—	
Клевера, контроль	+	+	+
Клевер заражен чистым фильтратом	—	—	—

Примечание Условные обозначения см. табл. 1.

Нужно отметить, что иногда два штамма одного и того же вида клубеньковых бактерий проявляли себя при культивировании в фильтрате по-разному. Образование клубеньков у клевера было отмечено при инокуляции его фильтратом, где выращивался лишь один из двух взятых в опыт штаммов клубеньковых бактерий вики (табл. 1).

Израильский [1] считает, что муфтообразные утолщения на корнях бобовых не имеют отношения к клубенькам, ибо они возникают не под влиянием клубеньковых бактерий. Он допускает возможность их образования или под влиянием ростовых веществ из фильтратов, или под действием фильтрующихся форм клубеньковых бактерий.

В наших опытах (табл. 1 и 2) при инокуляции клевера фильтратом с засеянной в него культурой клубеньковых бактерий, не специфичной клеверу, на корнях последнего образовались не только муфтообразные утолщения, но и типичные клубеньки.

Кроме методики Красильникова, нами была использована методика, впервые предложенная и с успехом примененная Гильтнером (Hiltner [6]). Культивирование неспецифичных клубеньковых бактерий проводилось в фильтратах из содержимого старых клубеньков клевера и эспарцета. Во многих случаях при применении этой методики нам удалось отметить образование клубеньков соответственно у клевера или эспарцета при инокуляции фильтратом с неспецифичной им культурой клубеньковых бактерий. Образование клубеньков у клевера наблюдалось чаще, чем у эспарцета. При применении методики Гильтнера изменения в фильтратах наступали быстрее (через 50—60 дней вместо трех месяцев, необходимых при использовании методики Красильникова).

Вышеприведенные опыты допускают двоякое толкование природы наблюдавшихся явлений как с точки зрения гипотезы Красильникова, так и с точки зрения нашего предположения. В связи с этим мы попытались получить экспериментальные данные в пользу нашего предположения.

Прежде всего, при помощи специальных сред с РНК и ДРНК и дрожжевым автолизатом [5] как в фильтратах старых культур, так и в фильтратах содержимого старых клубеньков были обнаружены фильтрующиеся формы клубеньковых бактерий.

При последовательных пассажах на этих же средах началась их регенерация. Последнюю в нескольких случаях удалось довести до форм, морфологически близких к исходным, но отличавшихся биохимической инертностью и большей частью авирулентных.

Для того чтобы проверить, может ли восстанавливаться вирулентность при регенерации фильтрующихся форм клубеньковых бактерий клевера в присутствии клубеньковых бактерий других видов как «кормилок», были поставлены следующие опыты: культуры клубеньковых бактерий фасоли, люпина, гороха, вики, эспарцета и чины 50-суточного возраста вносились в фильтрат культур клубеньковых бактерий клевера трех возрастов. Этой смесью немедленно инокулировались простерилизованные с поверхности семена клевера, которые засевались в банки со стерильным песком и питательным раствором Прянишникова (без азота). В качестве контроля семена клевера инокулировались чистым фильтратом. Полученные данные приведены в табл. 3.

Таблица 3

Клубеньковые бактерии как „кормилки" при регенерации фильтрующихся форм клубеньковых бактерий клевера

„Кормилки"	Фильтрат		
	30-суточной культуры	40-суточной культуры	150-суточной культуры
Клубеньковые бактерии			
чины	+—	+	+—
эспарцета	—	—	—
гороха	+	—	—
вики, штамм 1	+	+—	+—
„ „ 2	—	—	—
люпина, штамм 1	—	—	—
„ „ 2	+—	—	+
фасоли, штамм 1	+—	—	—
„ „ 2	+—	+—	—
Инокуляция чистым фильтратом (контроль)	—	—	—

Примечание Условные обозначения см. табл. 1.

Из табл. 3 видно, что в некоторых случаях удалось восстановить вирулентность у вторичных культур клубеньковой бактерии клевера при одновременном заражении старыми культурами других видов этой бактерии. При указанной постановке опыта старые культуры других видов клубеньковых бактерий вовсе не культивировались в фильтрате клубеньковых бактерий клевера.

Это говорит против предположения о возможности прививки им новой вирулентности.

Прямое подтверждение нашего предположения о роли клубеньковых бактерий как «кормилок», можно было бы получить при проведении опыта на твердой среде, где клубеньковые бактерии-«кормилки» и фильтрат, содержащий фильтрующиеся формы, были бы пространственно отделены. В этом случае при проверке их вирулентности удалось бы установить, приобретают ли новую вирулентность клубеньковые бактерии или регенерируют фильтрующиеся формы с восстановлением исходной вирулентности.

Такие опыты были поставлены на чашках Петри с твердой средой для медленно растущих клубеньковых бактерий. В центр чашки наносилась капля фильтрата клубеньковых бактерий клевера, а вокруг нее

кольцом на небольшом расстоянии сеялась кормилка — клубеньковая бактерия другого вида. Чашки с посевом выдерживались во влажной камере при 25°. В результате в шести случаях из 36 удалось регенерировать фильтрующиеся формы с образованием вторичных культур клубеньковых бактерий клевера. У них проверялась вирулентность к клеверу, а у клубеньковых бактерий-кормилок вирулентность проверялась как к клеверу, так и к соответствующему им бобовому растению. Оказалось, что в двух случаях у клевера образовались клубеньки при инокуляции регенерировавшими фильтрующимися формами. Ни одна из клубеньковых бактерий-кормилок своей вирулентности не изменила.

Приведенные данные подтверждают наше предположение, что клубеньковые бактерии одних видов могут служить «кормилками» при регенерации фильтрующихся форм других видов этих бактерий.

Выводы

1. Фильтраты старых культур клубеньковых бактерий клевера с засеянными в них клубеньковыми бактериями других видов приобретают способность вызывать образование клубеньков у клевера.

2. Аналогичное явление наблюдается в фильтратах содержимого старых клубеньков клевера или эспарцета с засеянными в них клубеньковыми бактериями других видов.

3. В определенных условиях клубеньковые бактерии одного вида могут служить «кормилками», под влиянием которых происходит регенерация фильтрующихся форм других видов этих бактерий с восстановлением вирулентности.

Киевский государственный университет
им. Т. Г. Шевченко

Получено 14.VI.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Израильский В. П. Исследование изменений клубеньковых бактерий при росте их в фильтратах других бактерий. Микробиология, XXIII, 22, 1954.
2. Кореняко А. И. Новый метод определения активности клубеньковых бактерий. Рефераты работ учреждений Отделения биологических наук АН СССР за 1941—1943 гг., 133.
3. Красильников Н. А. Интенсивность клубеньковых бактерий. ДАН СССР, XXXI, 90, 1941.
4. Красильников Н. А. Прививка новых свойств вирулентности клубеньковым и некоторым неклубеньковым бактериям. Микробиология, XIV, 230, 1945.
5. Петерсон Н. В. Фільтрівні форми бульбочкових бактерій. Мікробіологічний журнал АН УРСР, XV, 67, 1953.
6. Hiltner L. Über die Ursachen, welche die Grösse, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft, **1**, 177, 1900.

ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ ФОРМЫ ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО СТРЕПТОКОККА В БУЛЬОННЫХ КУЛЬТУРАХ

А. Г. Сомова

Представление о фильтрующихся формах микробов как о необязательных формах существования, имеющих приспособительный характер и возникающих при неблагоприятных условиях, разделяемое Тимаковым [10], Муромцевым [6], Смородинцевым [8] и др., не случайно, так как является наиболее простым решением проблемы. Такое решение вопроса, естественно, делает ненужными и лишенными теоретического, а следовательно и практического значения исследования, касающиеся изучения биологии фильтрующихся форм, их этиологической и патогенетической роли при тех или иных заболеваниях и т. д. Незнание биологических закономерностей развития микробов при этом используется в качестве якобы экспериментального подтверждения занимаемой позиции.

Иллюстрацией к вышесказанному является статья Штерн [14].

Автор почему-то не упоминает работ своих многочисленных предшественников (Розен [7], Маслаковец [5] и др.), убедительно доказывающих этиопатогенетическое значение фильтрующихся форм гемолитического стрептококка при скарлатине. Также не упоминаются работы современных исследователей этой проблемы (Крестовникова [4], Фалькович [11, 12], Клодницкая [2, 3], Фризе [13], Жданов [1]).

Для выяснения условий развития и частоты появления фильтрующихся форм гемолитического стрептококка в культурах Штерн применяла самые обычные методы культивирования стрептококка. Методически неправильно проводимые исследования привели к выводу, что «количество фильтрующихся форм, способных регенерировать, крайне ничтожно: одна такая форма приходится на 15—20 млн. полноценных клеток в жидкой культуре» (Штерн [14]).

При посеве фильтратов на обычные питательные среды невозможно судить ни о наличии фильтрующихся форм, ни об их количестве и способности к регенерации.

При посеве фильтратов односуточных и пятисуточных бульонных культур 10 штаммов гемолитического стрептококка, в количестве 0,08; 0,4 и 2,0 мл, в пробирки и флаконы с полужидким (0,1%) МПА из 40 пробирок и 20 флаконов ни в одном случае вторичные культуры нами получены не были. Посевы выдерживались в термостате при 37° пять суток, а затем оставлялись при комнатной температуре. Высевы на чашки с кровяным МПА производились повторно и многократно.

Параллельно были поставлены опыты, опирающиеся на наши представления о фильтрующихся формах как начальной стадии развития микробов, нуждающейся для перехода в последующие стадии — предклеточную и клеточную — в особых условиях существования. Те же штаммы стрептококков мы засевали на сахарный бульон и из одно- и пятисуточных культур готовили фильтрат. Перед фильтрованием прибавляли на 10 мл культуры по две-три капли 10%-ного раствора аммиака для десорбции фильтрующихся форм с поверхности микробных клеток и для устранения возможной адсорбции их на стенках пор фильтра. Фильтрацию производили через фильтры Зейтца. Вторую порцию тех же бульонных культур перед фильтрованием центрифугировали для устранения возможного забивания пор фильтра микробными клетками.

Каждый фильтрат (всего 36*) мы засевали в количестве 0,08 и 0,4 мл на пять различных сред, разлитых по 10 мл:

1) взвесь дрожжей «Логос № 29» в МПБ по Фризе;

2) взвесь дрожжей «Логос № 29» в растворе Тироде (модификация метода Фризе, предложенная Калиной);

3) взвесь дрожжей «Логос № 29» в коллоидной среде (0,1%-ный агар на растворе Тироде с уменьшенным в 10 раз содержанием поваренной соли — также по Калине);

4) взвесь дрожжей «Логос № 29» в молоке;

5) МПБ в качестве контроля.

Контролями служили те же среды, засеянные фильтратами, но без дрожжей и с дрожжами, но без фильтратов. Ни в одном случае в контрольных пробирках вторичные культуры обнаружены не были.

Параллельно все эти фильтраты пассировались через куриные эмбрионы по методу Фалькович [11, 12].

Одновременное применение различных методов форсированной регенерации на нескольких средах, массовость исследований одних и тех же фильтратов дают возможность получить регенерацию фильтрующихся форм во всех исследованных фильтратах. Кроме того, повторение опытов нередко сопровождается положительными результатами там, где прежде были отрицательные.

Все это говорит о том, что возникновение фильтрующихся форм есть закономерный процесс, и наша задача — вскрыть потребности, предъявляемые ими к условиям внешней среды для перехода в клеточные формы.

При наличии положительного результата при высевах на чашки с кровяным агаром вырастали зеленоватые многочисленные колонии стрептококков, которые при пересеве в бульон давали диффузное помутнение (S-форма) и после нескольких пересевов восстанавливали способность вызывать гемолиз. На чашках, на которых вырастали вторичные культуры стрептококков, колонии дрожжей не появлялись или были единичными, там же, где вторичный рост не наблюдался,— обильно вырастали дрожжи. Эта закономерность, указывающая на большую «жизненность» вторичных культур стрептококка, сопровождала все опыты и явно опровергает представления о фильтрующихся формах и возникающих из них юных клеточных стадиях как «невыгодных для существования вида», маложизненных и т. п.

Из десяти исследованных односуточных бульонных культур гемолитического стрептококка все десять дали вторичные культуры; шесть пятисуточных бульонных культур из восьми также дали вторичные культуры. Из десяти исследованных штаммов гемолитического стрептококка, выделенных от больных скарлатиной, во всех десяти были обнаружены фильтрующиеся формы.

Будучи вполне объективными в оценке полученных нами результатов, мы полностью отдаем себе отчет в том, что примененные нами методы далеки еще от идеальных. Если бы они были совершенны, регенерация происходила бы во всех исследованных нами фильтратах. Это особенно четко выявляется при сравнительной оценке различных методов, применявшихся нами (табл. 1).

Из таблицы видно, что в ряде случаев положительный результат при применении одного из методов сопровождался отрицательными результатами, полученными другими методами. Различные методы в наших исследованиях как бы дополняли друг друга. В общем можно сказать, что культивирование фильтратов гемолитического стрептококка во взвеси дрожжей «Логос № 29» в растворе Тироде дало, сравнительно с другими методами, относительно более успешные результаты.

---

* Четыре фильтрата пятисуточных культур штаммов № 9 и 10 были исключены вследствие постороннего загрязнения.

Таблица 1

Возраст культур в сутках	Фильтраты односуточных культур										Фильтраты пятисуточных культур								Итого
Штаммы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	
МПБ+„Логос“	2	2	1	0	0	0	2	2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	12
Тироде+„Логос“	3	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	2	0	1	0	1	14
Коллоидная среда+„Логос“	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0	10
Молоко+„Логос“	1	3	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	8
МПБ (контроль)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Пассажи на эмбрионах . .	0	0	0	2	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	6
Наличие фильтр. форм	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	+	+	+	

Примечание. Цифры обозначают количество положительных результатов при посевах фильтратов в четырехкратной повторности на всех средах, кроме куриных эмбрионов, где повторность была трехкратной.

Среды с дрожжами оказались более эффективными, чем пассажи через эмбрионы, но при этом следует учесть, что нами в предыдущих исследованиях по выявлению фильтрующихся форм гемолитического стрептококка в смывах из зева скарлатинозных больных положительные результаты были получены чаще всего на 4—5, а иногда и на 6—8 пассажах. В данных же исследованиях пассажи нами обрывались на третьем, иногда даже на втором. Возможно, что увеличение количества пассажей увеличило бы и количество положительных результатов.

Анализ результатов исследований с различными количествами вносившегося в среду фильтрата позволил сделать вывод, что меньшие количества фильтрата (0,08 мл) давали даже более высокий процент положительных результатов, чем большие дозы (0,4 мл), что отражено в табл. 2

Таблица 2

Штаммы	1	2		3	4		5	6		7	8		9	10	Итого		Всего
Возраст культур в сутках	1	1	5	1	1	5	5	1	5	1	1	5	1	1	1	5	
Внесено 0,08 мл	7	7	3	0	1	4	1	0	0	0	2	1	3	0	20	9	29
Внесено 0,4 мл	1	5	0	1	0	2	0	1	1	2	1	0	0	1	12	3	15

Примечание. Цифры обозначают количество положительных результатов при посевах фильтратов в восьмикратной повторности на различных модификациях сред.

Что касается причины большей интенсивности регенерации при засевах меньших количеств фильтрата, то можно предполагать, что в культурах наряду с фильтрующимися формами образуются какие-то вещества, тормозящие даже в небольших количествах регенеративные процессы. Чем меньше таких веществ вносится в среду, тем успешнее идет регенерация.

Мы не смогли убедиться в необходимости центрифугирования культуры перед фильтрацией, по крайней мере по отношению к бульонным культурам стрептококков. Из табл. 3 видно, что одинаковые результаты получены при исследовании как центрифугированных, так и нецентрифугированных культур.

Таблица 3

Штаммы	1	2		3	4		5	6		7		8		9	10	Итого		Всего
Возраст культур в сутках	1	1	5	1	1	5	5	1	5	1	5	1	5	1	1	1	5	
Центрифугирована	4	6	1	0	0	3	0	0	1	1	0	3	1	3	0	17	6	23
Не центрифугирована	4	6	2	1	1	3	2	1	0	1	1	0	1	0	1	15	9	24

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что фильтрующиеся формы гемолитического стрептококка закономерно образуются и в достаточно больших количествах в свежих, односуточных и в более старых, пятисуточных бульонных культурах. Это убедительно говорит в пользу взгляда на фильтрующиеся формы как на нормальные стадии онтогенеза микробной клетки, а не как на следствие неблагоприятных воздействий внешней среды.

Едва ли на основании исследования фильтрующихся форм стрептококка в культурах можно сделать какие-либо выводы об участии их в патогенезе скарлатины, как это пытается делать Штерн. Однако даже ее собственные данные о том, что вторичные культуры гемолитического стрептококка способны продуцировать эритрогенный токсин (пусть даже только в 10% всех выделенных культур) представляется весьма веским аргументом в пользу возможного этиологического значения фильтрующихся форм стрептококка при скарлатине. За это же говорит частота обнаружения фильтрующихся форм гемолитического стрептококка в фильтратах смывов из зева скарлатинозных больных (Жданов [1]; Сомова [9]), а также установленный нами факт, что реакция нагрузки «вирусом» бактерий при скарлатине (АВБ) может быть воспроизведена при замене фильтрата смыва из зева скарлатинозных больных лизатом гемолитического стрептококка.

Выводы

1. При применении соответствующих условий и комбинации различных методов форсированной регенерации удается обнаружить в бульонных культурах всех исследованных штаммов гемолитического стрептококка фильтрующиеся формы.

2. Наилучшие результаты получаются при одновременном применении различных методов, включая и пассажи через развивающиеся куриные эмбрионы.

3. Меньшие дозы вносимого в среды фильтрата (0,08 мл) эффективнее, чем большие дозы (0,4 мл), что свидетельствует о значительном количестве образующихся фильтрующихся форм даже в свежих, односуточных культурах, а также о наличии в фильтратах каких-то веществ, тормозящих регенеративные процессы.

Черновицкий медицинский институт

Получено 25.VI.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жданов В. М., Мительман И. М. и Юдельзон А. А. К изучению этиологии скарлатины. Тр. Ин-та эпид. и микр. им. И. И. Мечникова, 19, 177, 1952.
2. Клодницкая С. Н. К вопросу об этиологии скарлатины. Журн. микроб., эпидем. и иммунологии, стр. 21, 1945.
3. Клодницкая С. Н., Луппова Е. И., Смирнова Е. И., Тараненко А. Ф. К вопросу об этиологии скарлатины. Сообщ. 3. Тр. Моск. обл. ин-та им. И. И. Мечникова, вып. 5 (Детские инфекции), 36, 1951.
4. Крестовникова В. А. К учению о стадиях развития микроорганизмов. М., 1950.
5. Маслаковец П. П. Роль стрептококка в этиологии скарлатины. Микробиол. журнал, II, 87, 1925.
6. Муромцев С. Н. Изменчивость микроорганизмов и проблемы иммунитета. М., 1953.
7. Розен П. С., Крич Н. И., Гуляева А. П. и Скалкина Е. И. Экспериментальная скарлатина у кроликов. Тр. X съезда бакт., эпид. и сан. врачей 1926 г., Харьков, стр. 144, 1927.
8. Смородинцев А. А. и Кривицкий А. С. Изменчивость вирусов. Природа, № 12, стр. 34, 1953.
9. Сомова А. Г. К вопросу об этиологии скарлатины. Сообщ. 1. Мікробіологічний журнал, XVI, 60, 1954.
10. Тимаков В. Д. Проблема изменчивости микроорганизмов. Актовая речь 24 ноября 1952 г. во 2-м Московском мед. институте.
11. Фалькович Л. И., Воронкова О. И., Красильщик Р. Б. К вопросу об этиологии скарлатины. Тр. Конференции по изменчивости микробов 25—28 ноября 1948 г., Горький, 103, 1949.
12. Фалькович Л. И., Воронкова О. И. и Журавская И. В. К этиологии скарлатины. Сообщ. 1, 2, 3. Тр. Моск. обл. ин-та им. И. И. Мечникова, вып. 5 (Детские инфекции), стр. 3, 10, 15, 1951.
13. Фризе В. В. Фильтрующиеся формы стрептококков при скарлатине. Тр. Моск. обл. ин-та им. И. И. Мечникова, вып. 5 (Детские инфекции), 31, 1951.
14. Штерн Е. А. К изучению фильтрующихся форм гемолитического стрептококка. Микробиология, XXIII, вып. 2, стр. 147, 1954.

К ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ВАРИАНТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ ФАКТОРОВ

А. А. Имшенецкий

Возможность получения наследственных изменений у микроорганизмов под влиянием лучистой энергии или сильных ядов доказана уже давно.

За последние тридцать лет накопились факты, говорящие об исключительном разнообразии вариантов, возникающих в этих условиях — в результате воздействий изменялась форма клеток и колоний, потребность микроорганизма в витаминах и аминокислотах, подвергались изменению отдельные этапы биосинтеза различных веществ. Возникающие в последнем случае варианты помогли при помощи изящных методических приемов расшифровать пути синтеза цитруллина, аргинина, орнитина и других соединений.

Значительный интерес имеет получение таким путем новых рас микробов, обладающих повышенной биохимической активностью и при этом представляющих практический интерес. Достаточно указать на культуры гриба Penicillium, образующие в 70 раз больше пенициллина, чем исходная дикая форма. В руководимой нами лаборатории были получены под влиянием ультрафиолетовых лучей у грибов из рода Aspergillus расы, обладающие более высокой амилолитической или протеолитической активностью, что представляет интерес для ферментной промышленности. Не соглашаясь с некоторыми теоретическими положениями генетиков и микробиологов, работающих за рубежом, мы должны с большим вниманием отнестись к возможности получения новых высокоактивных рас микроорганизмов в результате применения сильнодействующих факторов. Любой метод, позволяющий интенсифицировать микробиологические процессы, имеет право на существование наряду с другими методами. Исследования, проводимые нами на протяжении ряда лет с бактериями, дрожжами и плесневыми грибами, позволяют высказать ряд положений общего характера и проиллюстрировать их соответствующими примерами.

Задача данной краткой статьи заключается не только в том, чтобы показать возможность получения активных рас при помощи сильнодействующих факторов, но также отметить некоторые затруднения, которые возникают в работе.

Жизнеспособность вариантов и морфология колоний

В микробиологической литературе нередко употребляют термин «складчатый вариант» для характеристики определенных, подразумевающихся однотипными по своей биологии, вариантов. При этом исходят из ошибочного представления о том, что многообразная изменчивость микроорганизмов может быть втиснута в рамки учения о диссоциации. В действительности же изменчивость микробов гораздо многограннее, шире, и один и тот же вид может иметь не одну, а много различных складчатых форм. Среди последних, как было установлено работами, выполненными в нашей лаборатории, могут быть формы более активные в физиологическом отношении. Это касается способности пенициллов образовывать

глюконовую кислоту (Касаткина [5]), аспергиллов, образующих амилазу и протеазу (Имшенецкий и Перова [8], Броцкая [1]), скорости размножения дрожжей (Карасевич [4]), интенсивности размножения уксуснокислых бактерий, окисляющих сорбит (Имшенецкий и Кузюрина [2]).

Интерес к складчатым вариантам объясняется также тем, что все экспериментально полученные высокоактивные расы пенициллa, образующего пенициллин, имеют колонии складчатой формы; способность вырабатывать грамицидин наблюдается только у складчатых вариантов; все наиболее урожайные расы кормовых дрожжей, выращиваемых на гидролизатах, также имеют складчатую форму колоний. Таким образом, в ряде случаев между внешней формой колоний и практически ценными свойствами микроорганизмов существует корреляция. Можно ли отсюда сделать вывод, что любая складчатая форма, полученная у одного и того же вида микроба, должна быть физиологически более активной, чем гладкая форма, или обладать практически ценными свойствами? Естественно, что на этот вопрос необходимо ответить отрицательно. Однако это не уменьшает необходимости детального изучения физиологии различных складчатых вариантов, так как среди них могут быть найдены формы с интересными, и не только в теоретическом отношении, свойствами. В противоположность этому, массовая проверка многих штаммов, полученных из исходной гладкой культуры, не позволяет найти нужные формы; колебания в активности отдельных гладких штаммов бывают очень незначительными.

Целесообразность отбора именно среди складчатых вариантов становится очевидной. Но для правильного отбора наиболее перспективных рас надо хорошо знать варианты, не представляющие интереса, и чем легче проводится, на основании морфологических признаков, браковка непригодных рас, тем скорее осуществляется селекция.

Подавляющее большинство исследований по получению вариантов под влиянием различных сильнодействующих факторов посвящено выяснению частоты образования новых форм при различной интенсивности действия данного фактора, количеству погибающих клеток при определенных условиях опыта, характеристике возникающих вариантов, устойчивости вновь образовавшихся свойств и т. п. Между тем сильнодействующие факторы нарушают в различной степени обмен веществ микроорганизмов, и подавляющее большинство вновь возникающих вариантов обладает пониженной жизнеспособностью. Если это понижение сравнительно незначительно и скорость роста и развития не особенно замедлена, то при одновременном усилении биосинтеза в нужном направлении данный вариант может представить и практический интерес. Так, ряд производственных рас плесневых грибов размножается хуже, чем исходная дикая форма, но это компенсируется более высокими выходами ценных продуктов на единицу сухого веса урожая. Под влиянием иприта, рентгеновских, ультрафиолетовых лучей или других факторов возникает целая гамма вариантов с различной жизнеспособностью, в том числе образуются расы с резко пониженным биологическим потенциалом. Существует простой методический прием, позволяющий судить о способности микроорганизмов к размножению. Производится посев культуры в центр чашки Петри с плотной питательной средой (МПА, сусло-агар и др.), и через десять дней изучают внешний вид колоний, измеряют их размер и, если необходимо, определяют вес колоний.

Складчатые формы бактерий образуют колонии, размер и вес которых обычно больше, чем у гладких форм. Так, по данным Касаткиной, вес гладких колоний Bac. mesentericus был равен 10,8 мг, а складчатых соответственно 19,4 мг.

У грибов из рода Penicillium или Aspergillus под влиянием сильнодействующих факторов образуются складчатые колонии, которые могут быть весьма разнообразными по своей величине и форме. Их диаметр всегда

Рис. 1

Рис. 2

Рис. 3

Рис. 4

Рис. 5

Рис. 6

Рис. 1. Гигантская складчатая колония Penicillium chrysogenum
Рис. 2. Складчатая колония Penicillium chrysogenum
Рис. 3. Карликовая бугристая колония дегенеративной расы Penicillium chrysogenum
Рис. 4. Исходная гладкая колония Saccharomyces cerevisiae (XII раса)
Рис. 5. Складчатая колония Saccharomyces cerevisiae (XII раса) с мозговидной поверхностью
Рис. 6. Небольшая колония дегенеративной расы Saccharomyces cerevisiae (XII раса)

Рис. 7. Клетки складчатой расы Saccharomyces cerevisiae, обладающие пониженной жизнеспособностью

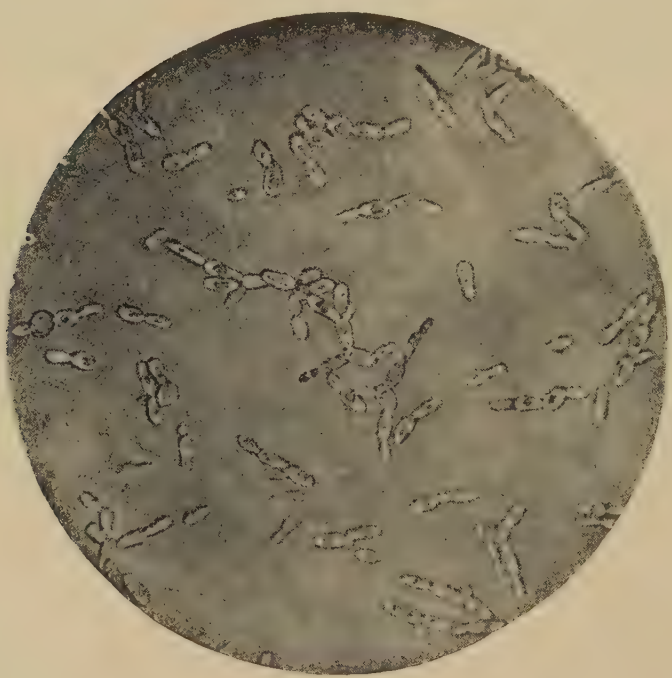


Рис. 8. Измененные клетки складчатого варианта Saccharomyces cerevisiae

меньше диаметра исходных, диких гладких или слабоскладчатых форм, но вес колоний может быть бóльшим, равным или меньшим, чем вес колонии гладких вариантов. Представление о различном внешнем виде складчатых колоний пенициллов дают рисунки (рис. 1 и 2). При значительном падении биологического потенциала экспериментально полученные расы аспергиллов и пенициллов образуют очень мелкие, резко дегенеративного характера, колонии (рис. 3). Совершенно естественно, что столь резко пониженная способность к росту исключает возможность практического применения таких культур.

Варианты дрожжей, полученные при помощи ультрафиолетовых лучей, могут иметь складчатые колонии самой различной формы. В редких случаях десятидневные колонии имеют больший диаметр, чем колонии того же возраста гладкой исходной формы. Это отчетливо видно при сопоставлении рис. 4. с рис. 5. Иногда встречаются складчатые расы, дающие колонии, равные по своей величине колониям гладкой формы или имеющие меньший диаметр (рис. 6). Рельеф и структура складчатых колоний также бывают различными. Колонии плоские с небольшим числом радиальных складок содержат меньше клеток, чем приподнятые колонии с извилистой «мозговидной» поверхностью (рис. 5). Перспективными в смысле накопления урожая могут быть только расы, образующие колонии, диаметр которых больше, чем диаметр гладких колоний исходной формы.

Варианты, колонии которых равны или меньше гладких колоний, относятся к дегенеративным и размножаются слабее исходной культуры. При отборе складчатых вариантов большое значение имеет окраска колоний. У изучавшейся культуры Saccharomyces cerevisiae колонии беловатые, почти без кремового оттенка. Появление у десятидневных колоний кремового цвета говорит о пониженной жизнедеятельности культуры. Ранее было известно, что расы дрожжей, образующие коричневатые или шоколадного цвета колонии, мало жизнеспособны. Это уже далеко зашедшие изменения. Наши наблюдения выяснили, что кремовый или очень светлокоричневый оттенок колоний зависит от ненормального строения дрожжевых клеток и говорит о дегенеративном состоянии культуры. Не исключена возможность, что некоторые из таких форм могут иметь практический интерес, например: образование жира, стеринов и т. д. Но биологический потенциал таких рас понижен, и их размножение замедлено. Обычно кремовый оттенок сочетался с образованием у колоний бугристой поверхности. У резко ослабленных, дегенеративных рас колонии врастают в агар и вызывают в нем трещины (рис. 6). В противоположность этому, у складчатых колоний, принадлежащих к типу, изображенному на рис. 5, диаметр гигантских колоний больше, чем у колоний исходной гладкой формы, и вес биомассы выше на 82—96% (табл. 1).

Таблица 1

Размер и вес гигантских колоний гладкой формы Saccharomyces cerevisiae и складчатой расы АН 8 (возраст колоний 10 дней, цифры соответствуют весу трех гигантских колоний)

Диаметр колоний в мм		Вес колоний в г		Вес колоний в %	
исходная гладкая	складчатый вариант АН 8	исходная гладкая	складчатый вариант АН 8	исходная гладкая	складчатый вариант АН 8
206	266	0,0900	0,1640	100	182
183	246	0,0760	0,1497	100	196

Таким образом, размеры, структура и рельеф, а также окраска колоний позволяют судить, с известной долей вероятности, о жизнедеятельности различных складчатых вариантов.

Жизнедеятельность вариантов и строение мицелия и клеток

Форма колонии микроорганизмов определяется структурой и расположением мицелия или клеток. Для гладких колоний Penicillium и Aspergillus характерно сравнительно рыхлое расположение тонких прямых гиф, имеющих обычное строение. Клетки, составляющие гифы, длинные, с ровной, тонкой оболочкой и гомогенным содержимым. У складчатых форм мицелий толще, извитой, гифы, тесно переплетаясь друг с другом, образуют плотный войлок; клетки, составляющие гифы, короче, с утолщенной оболочкой, контуры последней неровные, иногда зубчатые; содержимое клеток зернистое. Чем резче складчатость колонии, тем сильнее выражены вышеописанные изменения мицелия. Систематическое микроскопирование мицелия из колоний Aspergillus или Penicillium дает возможность, не видя колоний, на основании одной морфологии мицелия, сделать вывод о способности к росту данной расы гриба. Как известно, гладкие и складчатые варианты дрожжей отличаются по форме клеток. У гладких исходных форм Saccharomyces cerevisiae клетки яйцевидной или овальной формы, располагаются поодиночке, изредка образуют небольшие фигуры почкования или цепочки из 2—3 клеток. Для складчатых форм характерно образование довольно больших, состоящих из 6—10 элементов, фигур почкования, отдельные клетки имеют удлиненно-овальную форму и несколько крупнее, чем клетки гладкой культуры. Различие между гладкими и складчатыми вариантами выступает достаточно отчетливо как на жидких, так и на плотных питательных средах.

В результате микроскопии клеток различных складчатых вариантов удалось установить, что понижение жизнедеятельности рас сопровождается изменением структуры клеток, и чем более жизнедеятельность падает, тем эти изменения резче. Сильно складчатые, приподнятые колонии, белые или с очень слабо выраженным кремоватым оттенком, состоят из клеток с гомогенной, светлой плазмой, единичными не увеличенными вакуолями и обычным количеством жира. В складчатых или бугорчатых колониях с ясно выраженным кремовым оттенком клетки дрожжей имеют совершенно иную структуру. Содержимое клеток утрачивает свою гомогенность и становится даже в молодых, 24—48-часовых культурах зернистым. Грубая зернистость плазмы — один из первых признаков неполноценности изучаемой расы. Параллельно с этим в клетках раньше и в большем количестве накапливаются капли жира, располагающиеся преимущественно вокруг вакуолей. Величина вакуолей в клетке увеличивается, нередко встречаются клетки с двумя-тремя вакуолями. Оболочка таких дрожжей несколько утолщена. Размеры самих клеток остаются такими же, как и у складчатых рас с нормальной структурой клеток. Изменения дрожжей, характерные для складчатых вариантов, изображены на рис. 7 и 8. Эти изменения очень далеки от тех микроскопических картин, которые наблюдаются у клеток явно дегенеративных рас, образующих мелкие светлокоричневые колонии. В этом случае видны мелкие клетки удлиненной формы с грубозернистым содержимым, лишенные вакуолей и интенсивно окрашивающиеся метиленовой синью. Это заключительный этап тех патологических изменений, начальная стадия которых описана выше. Таким образом, тонкие особенности строения дрожжевых клеток позволяют решить вопрос о перспективности (в смысле более интенсивного размножения) складчатой расы. Зернистость плазмы, вакуолизация, раннее жиронакопление — все это признаки, отсутствующие у хорошо растущих складчатых форм дрожжей. Наоборот,

появление кремового оттенка у колоний постоянно сопровождается начальными патологическими изменениями дрожжевых клеток, и такие формы обладают пониженной жизнеспособностью. Следовательно, в процессе изменчивости дрожжей могут возникнуть складчатые колонии с различным биологическим потенциалом, и на основании микроскопических картин можно браковать формы, не способные развиваться так, как это делают складчатые варианты, клетки которых имеют обычную структуру.

Размножение дрожжей

Выше говорилось о различной жизнеспособности у складчатых вариантов дрожжей. Наиболее надежным критерием в данных случаях служит скорость размножения клеток. С целью проверить способность некоторых складчатых рас к размножению были проведены опыты по выращиванию дрожжей в стеклянных цилиндрических сосудах, через которые пропускался воздух, распыляемый стеклянным фильтром, впаянным в нижнюю часть сосуда. Выращивание производилось в течение 8 часов при 28° на пивном сусле крепостью 7 Балг. Посевной материал вносился в количестве 10 млн. на 1 мл среды. Определение урожая осуществлялось весовым способом — культура фильтровалась через предварительно взвешенный стеклянный фильтр, который затем высушивался и снова взвешивался. Изучена была скорость размножения у складчатых рас АН 8 (рис. 5), № 2 и № 1 (рис. 6); контролем служила исходная гладкая форма Saccharomyces cerevisiae (рис. 4). Результаты этих опытов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Размножение исходной гладкой формы Saccharomyces cerevisiae XII расы и различных складчатых вариантов в аэрируемой жидкой культуре (среда — пивное сусло 7 Балг.; продолжительность опыта 8 часов; цифры соответствуют среднему из трех опытов)

Раса	Вес урожая в г	Вес урожая в %
Исходная гладкая культура . . .	0,1439	100,0
Складчатая АН 8	0,1893	133,7
„ № 1	0,0773	52,9
„ № 2	0,0537	37,3

Мы видим, что складчатая раса АН 8 дает урожай на 33,7% выше, чем у гладкой формы. Если мы примем урожай гладкой культуры за 100%, то складчатая раса № 1 дала урожай, равный 52,9%, а раса № 2 — только 37,3%. Следовательно, даже в условиях аэрации складчатые расы дрожжей, колонии которых имеют кремовый оттенок, а клетки подверглись структурным изменениям, описанным выше, дают очень низкие урожаи клеток, почти в три с половиной раза меньше, чем урожай клеток складчатой расы АН 8, клетки которой лишены этих изменений. Что касается бродильной функции этой расы, то она оказалась такой же, как и у исходной гладкой культуры. Для краткости мы не приводим цифрового материала, подтверждающего этот вывод.

Все изложенное выше убеждает в том, что при селекции микроорганизмов необходимо пользоваться не одним каким-нибудь признаком, а их совокупностью. Знание этих признаков позволяет вести отбор не вслепую, а осуществлять предварительно массовую браковку культур, не обладающих необходимой для применения в практике жизнеспособностью.

Выводы

1. Под влиянием сильнодействующих факторов возникают самые различные по своей физиологии расы микрорганизмов. Среди них могут быть варианты с повышенной биохимической активностью, представляющие практический интерес. Последнее обстоятельство делает необходимым углубленное изучение изменчивости, вызываемой лучистой энергией и ядами.

2. Наряду с активными вариантами сильнодействующие факторы вызывают образование рас с пониженной жизнедеятельностью. Такие культуры плохо размножаются даже на полноценных по своему составу питательных средах. Для селекции эти культуры не представляют интереса.

3. Существует ряд морфологических признаков, позволяющих установить дегенеративный характер таких экспериментально полученных рас. Гигантские колонии пенициллов, аспергиллов и дрожжей в этом случае по своим размерам меньше, чем колонии исходной формы. Мицелий у грибов обладает резко измененной морфологией.

4. Незначительно выраженные дегенеративные изменения при одновременном усилении определенных биохимических процессов (образование ферментов, антибиотиков, биосинтез жира и т. п.) не могут помешать практическому применению данной расы.

5. Возможность браковать малоперспективные расы микроорганизмов на основании морфологических признаков значительно облегчает селекцию.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 15.XI.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Броцкая С. З. Протеолитическая активность складчатого варианта Aspergillus niger. Микробиология, XXIII, 153, 1954.
2. Имшенецкий А. А. и Кузюрина Л. А. Окисление сорбита складчатыми расами уксуснокислых бактерий. Микробиология, XXIII, 159, 1954.
3. Имшенецкий А. А. и Перова К. З. Амилолитическая активность складчатых рас Aspergillus niger. Микробиология, XXII, 133, 1953.
4. Карасевич Ю. Н. О росте складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae в аэробных и анаэробных условиях. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, 3, 68, 1954.
5. Касаткина И. Д. К физиологической характеристике гладких и складчатых форм Penicillium chrysogenum. Микробиология, XXI, 548, 1952.

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ (ГОРОХА И СОИ) НА АЗОТФИКСИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В КЛУБЕНЬКАХ

М. В. Федоров и *Т. А. Успенская*

В настоящее время можно считать точно установленным, что растения реагируют на длину светового дня, соответственно усиливая или же ослабляя свое развитие (Туманов [4]), в частности ускоряя или же замедляя переход от вегативной формы развития к репродуктивной. Такое воздействие длины светового дня определяется тем, что растения на каждом этапе своего развития нуждаются в определенных внешних условиях (Лысенко [2]) — в том числе для прохождения «световой стадии» в определенной продолжительности светового дня. В зависимости от того, какой тип развития будет присущ растению, в нем резко меняется и тип обмена веществ. А изменения в типе обмена веществ, естественно, отражаются и на симбиотических взаимоотношениях между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями. Несмотря на существенное научное значение данного вопроса, он до настоящего времени изучен весьма слабо.

Первая попытка выявить влияние длины светового дня на образование клубеньков была предпринята Итоном (Eaton [7]). Выращивая сою при разной продолжительности освещения (от 2 до 16 часов в сутки), он установил, что хотя образование клубеньков и имеет место во всех вариантах опыта, однако количество их различно и зависит от продолжительности светового дня, при котором выращивается соя. При увеличении длины дня общее количество клубеньков у этого растения возрастает, а при обрывании листьев, приводящем к ограничению фотосинтеза,— падает.

На этом основании им было сделано заключение, что наличие в бобовом растении подвижных углеводов является основным фактором, способствующим образованию клубеньков. Аналогичное наблюдение было сделано немного ранее Леонардом (Leonard [8]). Выращивая сою в теплице в течение круглого года, он заметил, что наиболее успешное образование клубеньков наблюдается в месяцы с длинным днем. О значении углеводов для образования клубеньков можно судить и из данных по влиянию углекислоты на их образование. Если воздух обедняется углекислотой, число клубеньков обычно сокращается, а если растения специально снабжаются углеводами, то клубеньки хорошо образуются даже при их выращивании в темноте (Thornthon [10], Wilson [11]).

В дальнейшем ряд исследователей (Orcutt a. Fred [9]) выдвинули положение, что успешность образования клубеньков зависит не только от количества образующихся в растении углеводов, но и от соотношения между ними и азотистыми веществами. Избыток углеводов, по их мнению, даже тормозит образование клубеньков. Однако Чайлахян и Меграбян [6], выращивая ряд бобовых растений на естественном дне в Ереване, установили, что интенсивное развитие клубеньков происходит и при длинном дне и не зависит от фотопериодической реакции растений. Это положение Чайлахяна и Меграбян расходится с данными Мошкова [3], который обнаружил, что клубеньки на корнях белой акации образуются только при длине дня, превышающей 12 часов, а на корнях чингила — только на коротком 12-часовом дне. В этом случае зависимость образования клубеньков от фотопериодической реакции растений была вполне определенной.

Последнее положение подтверждается и рядом других исследователей. Бородулина [1] обнаружила, например, что при укорочении дня до 8 часов у позднеспелого сорта фасоли ускоряется цветение и вызревание семян и параллельно уменьшается вес образующихся клубеньков. На длинном же дне вес клубеньков был в шесть раз больше, хотя общий вес растительной массы и увеличился только в два раза.

Значение физиологического состояния бобового растения для симбиотического сожительства с клубеньковыми бактериями резко выступает и из данных наших исследований, выполненных совместно с Подъяпольской [5]. В опытах с горохом (растение длинного дня) и фасолью (растение фотопериодически нейтральное) нами было показано, что изменение длины светового дня сильнейшим образом сказывается на образовании клубеньков. Уменьшение длины светового дня во всех случаях привело к уменьшению числа клубеньков как у гороха, так и у фасоли. Эти данные также указывают на зна-

чение фотопериодической реакции растения в образовании клубеньков. Любопытно отметить, что добавление к дневному свету электрического (непрерывное освещение) дало совершенно неожиданный результат: урожай растений резко упал и азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий понизилась, что, видимо, было связано с затруднениями в оттоке углеводов из листьев в корневую систему.

Однако все эти данные все же не разрешили ряда вопросов, связанных с влиянием длины дня на продуктивность образования клубеньков и азотфиксирующую активность в них клубеньковых бактерий. Поэтому для более детального изучения некоторых из этих вопросов, в частности азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий в клубеньках, нами и были осуществлены опыты с клубеньковыми бактериями сои и гороха.

В наших опытах горох и соя выращивались в стеклянных вегетационных сосудах, вмещавших 9 кг кварцевого песка. Питательной средой служила смесь Гельригеля, содержащая азот в форме азотнокислого аммония. Из микроэлементов в нее вносились: бор (1 мг на 1 кг песка) и молибден (0,5 мг на 1 кг песка). В каждом варианте опыта половина сосудов имела полную норму минерального азота, а другая половина — 0,1 нормы. В первом варианте семена высевались стерильными, растения развивались без клубеньков, а во втором — они после стерилизации крепкой серной кислотой инокулировались чистыми культурами соответствующих клубеньковых бактерий и развивались за счет азотфиксирующей активности последних. Для создания более близких условий по питанию растений азотом полная норма азота в неинокулированной серии вносилась постепенно (по 0,1 нормы через каждые 6 дней). Песок перед опытом стерилизовался в автоклаве при давлении в 1,5 атм. в течение 2 часов. Инокуляция производилась штаммами клубеньковых бактерий: горох «Капитал» и соя «№ 631», полученными из Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии. Повторность опытов шестикратная. В каждом сосуде было шесть растений гороха и четыре растения сои. Влажность во время опыта поддерживалась на уровне 60% от полной влагоемкости песка путем ежедневного полива дестиллированной водой. В ходе опыта были использованы следующие варианты по длине светового дня: 1) естественное освещение в вегетационном домике (в среднем 16 часов) — контроль; 2) естественное освещение в вегетационном домике — 4 часа; 3) — 6 часов; 4) — 8 часов; 5) — 12 часов; 6) естественное освещение — 8 часов + электрическое (в люминостатной комнате) — 16 часов и 7) естественное освещение — 12 часов + электрическое — 12 часов.

На укороченном естественном дне растения ежедневно выставлялись на солнечный свет в 9 часов утра и освещались в соответствующие сроки. Температура воздуха во время опыта держалась около 20—22°. Электрические лампы подвешивались на высоте 30—40 см от растений, и каждая из них освещала площадь примерно в 1 м², при интенсивности освещения в 7—8 тыс. люксов. Определения в растениях общего азота производились через 36 дней от начала опыта и через 80 дней. С каждого варианта снималось по три сосуда. Азот определялся по методу Кьельдаля. Количество фиксированного азота определялось по разности между общим количеством азота, найденного во всех частях растения, и количеством азота, внесенного в сосуд при его набивке. Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий определялась по количеству азота, фиксированного на 1 мг веса клубеньков.

Наблюдения за образованием клубеньков показали, что через две недели на корнях инокулированных растений уже имеются округлые клубеньки светлокоричневого цвета. В этот период их не было только у растений, получавших непрерывное освещение. Клубеньковые бактерии в клубеньках имели вид палочек и различались по величине в зависимости от варианта опыта. Наиболее крупные клетки (около 5 μ) были

в клубеньках контрольных растений, наиболее мелкие — в клубеньках растений, получавших четырех- и шестичасовое освещение в сутки.

Первая уборка растений сои (сорт «Крушуля 9/3») была сделана через 36 дней после всходов. В это время растения, развившиеся на естественном и укороченном световом дне, обильно цвели, но высота их была разной. Непрерывно же освещавшиеся растения к этому времени еще не образовали даже бутонов. Вторая уборка была сделана через 80 дней после всходов. В это время и непрерывно освещавшиеся растения цвели. Накопление общего азота в растениях и азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий в клубеньках при разной длине дня приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Влияние на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий сои различной продолжительности светового дня

(Средние данные из трех повторностей)

Продолжительность светового дня	Фаза развития растений	Накоплено азота * в мг				Фиксировано азота атмосферы		
		надземная часть	корни	клубеньки	всего	в мг	в % от контроля	на 1 мг веса клубеньков в мг
Первый срок уборки								
4 часа	Бутонизация	63,1	3,7	0,0	66,8	19,6	14,0	0,70
6 часов	Цветение	101,5	11,7	3,6	116,8	69,6	51,0	0,84
8 „	„	137,5	18,1	7,5	163,1	115,9	85,0	1,05
12 „	„	145,5	21,8	9,8	177,1	129,9	96,0	0,92
8 часов естеств. освещения+16 часов электрического	Вегетативный рост	114,2	5,3	3,6	123,1	75,9	56,0	0,58
12 часов естеств. освещения+12 часов электрического	То же	114,2	4,7	4,0	122,9	75,7	56,0	0,58
Естеств. освещение (контроль)	Цветение	159,2	10,4	12,3	182,2	135,0	100,0	0,61
Второй срок уборки								
4 часа	Зелен. бобики	73,7	4,0	0,0	77,7	30,5	11,0	0,98
6 часов	То же	129,5	12,3	1,1	142,9	95,7	34,0	1,31
8 „	„	178,2	19,0	5,6	202,8	155,6	56,0	1,55
12 „	„	287,7	20,1	6,8	314,6	267,4	96,0	1,40
8 часов естеств. освещения+16 часов электрического	Цветение	198,8	5,5	8,1	212,4	165,2	59,0	0,78
12 часов естеств. освещения+12 часов электрического	Отдельные бобики	181,9	5,0	9,2	196,1	148,9	53,0	0,62
Естественное освещение (контроль)	Зеленые бобики	295,1	9,1	9,2	323,4	276,2	100,0	1,00

* Добавлено азота при набивке сосудов в количестве 47,5 мг на сосуд.

Количество азота, фиксированного клубеньковыми бактериями из атмосферы, падает с уменьшением длины светового дня, как к первому, так и ко второму сроку уборки. При продолжительности освещения в 4 часа в сутки оно отвечает только 11—14% от контроля. Увеличение же продолжительности дня до 6, 8 и 12 часов соответственно повышает

общую азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий до 51, 85 и 96% от контроля. Но зато добавление к 8- или же 12-часовому освещению естественным светом 16 или же 12 часов электрического освещения, т. е. перевод растений сои на непрерывное освещение, резко снижает азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий. В оба срока уборки растений она не поднимается выше 56—59% от контроля.

Еще более резкая разница в азотфиксирующей активности бактерий получается в том случае, когда она выражается на единицу веса клубеньков. Наиболее высокой она оказывается у растений, получавших 12-часовое освещение (1,55 мг на 1 мг веса клубеньков). У непрерывно же освещавшихся растений эта величина оказалась сниженной и не превышала 50% от контроля. Повидимому, при этих условиях освещения растений создаются затруднения не только для выполнения процесса азотфиксации бактериями, но и для последующего использования фиксированного азота растениями. Так как малая продуктивность азотфиксации в этом случае могла быть связана с недостаточным оттоком из листьев растений углеводов, без которых клубеньковые бактерии не могут осуществлять усвоение атмосферного азота, то следует полагать, что усиленное снабжение их энергетическим материалом не только ускоряет процесс азотфиксации, но создает и благоприятные условия для отдачи фиксированного азота растениям. Весьма вероятно, что при усиленной азотофиксации часть связанного азота становится не нужной бактериям для синтеза ими клеточного вещества и выделяется в клубенек, из которого и используется растением.

Косвенным доказательством в пользу того мнения, что пониженная азотфиксация бактерий влечет за собой понижение передачи азота растениям, могут служить данные по процентному содержанию азота в листьях и стеблях опытных растений. Наиболее низким оно оказалось как раз у растений, получавших непрерывное освещение.

Все это указывает на нарушение симбиотических взаимоотношений между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями при непрерывном освещении последних. В этих условиях бобовые растения, очевидно, не доставляют клубеньковым бактериям достаточного количества углеводов, и клубеньковые бактерии мало фиксируют азота из атмосферы и мало выделяют азотистых веществ в клубенек.

Микроскопическое исследование бактерий из клубеньков растений, получавших различную продолжительность освещения, показало, что в клубеньках растений, получавших 12, 8, 6-часовой укороченный день, они находятся в бактероидной стадии и протоплазма их клеток гомогенна. Бактерии же из клубеньков непрерывно освещавшихся растений имели вид мелких, слабо красящихся палочек, с зернистым содержимым. Вид этих клеток указывает на их преждевременное старение. Это явление еще более резко выступало при микроскопировании бактерий в период второго срока уборки, в чем легко убедиться из рис. 1.

В условиях естественной длины дня, а также и на укороченном дне, клубеньковые бактерии нормально проходят цикл своего развития и поэтому нормально фиксируют азот атмосферы. При непрерывном же освещении растений в клубеньках содержатся слабо окрашивающиеся палочки с неоднородным содержимым, распадающимся на мелкие, шаровидные отдельности. Крупных палочек бактероидного типа в этих клубеньках обнаружить не удается. Видимо, малая азотфиксирующая активность их и определялась тем, что бактерии не могли в этих условиях долго оставаться в бактероидной стадии.

Разная продолжительность освещения растений оказала заметное влияние и на урожай растений сои, произраставших на минеральном азоте (без инокуляции клубеньковыми бактериями) и на азоте, ассимилируемом из воздуха (инокулированные растения). Сравнительные показатели урожаев растений той и другой серии опыта, а также интенсивность

образования клубеньков у инокулированных растений приводятся в табл. 2.

Неинокулированные растения, располагавшие полной нормой минерального азота в среде, развивались несколько лучше и дали более

а *б*

Рис. 1.

а — клубеньковые бактерии в клубеньках сои «Крушуля 9/3», произраставшей при естественной длине светового дня (второй срок уборки урожая). Фиксированный и окрашенный препарат. *б* — то же самое при произрастании растений при непрерывном освещении

высокий общий урожай. Однако укороченный световой день и в этом случае привел к резкому падению урожая. Это падение при питании минеральным азотом было даже более резким, чем в серии опыта с инокулированными растениями. Непрерывное же освещение вызвало более резкое падение урожая у инокулированных растений по сравнению с неинокулированными. Особенно недостаточное развитие инокулированных растений наблюдалось в варианте с непрерывным освещением в отношении корневой системы. Из 8,4 г общего веса урожая на долю корней приходится только 0,24 г, в то время как в серии с полным питанием минеральным азотом из 13,16 г общей массы урожая на долю корней приходится 1,07 г.

Данные показывают, что развитие клубеньков и азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий в них находятся в тесной зависимости от физиологического состояния бобового растения, в частности от интенсивности фотосинтеза и условий дальнейшего оттока углеводов в корневую систему. То и другое резко нарушается при непрерывном освещении или же недостаточном естественном освещении и приводит к изменению условий для развития клубеньковых бактерий в клубеньках, изменению их собственного цикла развития и в конечном итоге к изменению их азотфиксирующей активности.

У растений сои на укороченном дне быстро наступает цветение и репродуктивный тип развития преобладает над вегетативным. Вес клубеньков при этом снижается более резко, чем урожай растительной массы, но клубеньковые бактерии, получая достаточное количество углеводов, нормально проходят цикл своего развития и активно фиксируют азот атмосферы. На непрерывном же освещении симбиотические взаимоотношения клубеньковых бактерий с бобовыми растениями нарушаются, и бактерии в клубеньках быстро обнаруживают признаки старения. В клетках бактероидной ткани клубенька их становится меньше и фиксация атмосферного азота сильно снижается.

Таблица 2

Влияние продолжительности освещения растений сои на урожай и вес образуемых клубеньков в зависимости от условий питания азотом

(Средние данные из трех повторностей)

Продолжительность светового дня	Урожай в г							
	Инокулированные растения на 0,1 нормы минерального азота				Неинокулированные растения на полной норме минерального азота			
	надземной части	корней	клубеньков	общий урожай	надземной части	корней	клубеньков	общий урожай
Первый срок уборки								
4 часа	1,54	0,21	0,028	1,75	1,58	0,25	0	1,83
6 часов	3,28	0,69	0,072	3,97	3,71	0,85	0	4,56
8 „	3,78	0,79	0,110	4,57	4,62	1,09	0	5,71
12 „	4,41	1,15	0,140	5,56	5,71	1,17	0	6,88
8 часов естеств. освещения +16 часов электрического	5,39	0,53	0,130	5,92	7,26	0,80	0	8,06
12 часов естеств. освещения +12 часов электрического	5,44	0,59	0,140	6,03	7,31	0,84	0	8,15
Естеств. освещение (контроль)	5,91	0,65	0,220	6,56	7,89	1,00	0	8,89
Второй срок уборки								
4 часа	1,97	0,24	0,031	2,21	2,07	0,29	0	2,36
6 часов	4,28	0,77	0,073	5,05	4,65	0,97	0	5,62
8 „	5,07	0,95	0,100	6,02	5,67	1,23	0	6,90
12 „	8,39	1,26	0,190	9,65	10,01	1,35	0	11,63
8 часов естеств. освещения +16 часов электрического	8,02	0,37	0,210	8,39	12,66	0,97	0	13,63
12 часов естеств. освещения +12 часов электрического	8,05	0,36	0,240	8,41	12,09	1,07	0	13,16
Естеств. освещение (контроль)	9,97	0,83	0,270	10,80	13,35	1,90	0	15,28

Аналогичного типа исследования были поставлены нами и с клубеньковыми бактериями гороха. Методически постановка этих опытов осуществлялась совершенно однотипно с ранее описанными опытами с соей. В качестве опытного растения был использован сорт гороха «Капитал». В каждом сосуде выращивалось шесть растений. В большинстве вариантов первые клубеньки были обнаружены через две недели после появления всходов, а у непрерывно освещавшихся растений — только через 20 дней.

У гороха, как у растения длинного дня, наблюдалось ускорение цветения при увеличении продолжительности освещения в течение суток и замедление цветения при сокращении длины естественного дня. На 8, 6 и 4-часовом световом дне растения совсем не зацвели. В зависимости от типа развития растений (репродуктивный или же вегетативный тип) по-разному шло и усвоение атмосферного азота клубеньковыми бактериями, что легко установить из данных табл. 3.

При сокращении длины светового дня азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий гороха также значительно снижается. Если в условиях естественной длины дня они фиксировали 1,96—2,98 мг атмосферного азота на 1 мг веса клубеньков, то в условиях 12-, 8-, 6- и 4-часо-

Таблица 3

Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий в клубеньках гороха (сорт „Капитал") в зависимости от продолжительности освещения

(Средние данные из трех повторностей)

Продолжительность светового дня	Фаза развития растений	Накоплено азота * в мг				Фиксировано азота атмосферы в мг	
		надземная часть	корни	клубеньки	всего	всего	на 1 мг веса клубеньков в мг
Первый срок уборки							
4 часа	Вегетативн. рост	46,9	3,6	0,0	50,5	3,3	0,20
6 часов	То же	88,1	6,1	2,5	96,7	45,5	0,81
8 „	„	137,5	14,5	6,6	158,6	111,4	1,12
12 „	Бутонизация	153,7	8,1	4,8	166,6	119,4	1,86
8 часов естеств. освещения+16 часов электрического	Цветение	54,4	3,2	1,0	58,6	11,4	0,39
12 часов естеств. освещения+12 часов электрического	„	57,0	3,1	1,0	61,1	13,9	0,46
Естеств. освещение (контроль)	„	183,7	7,8	5,4	197,6	150,4	1,96
Второй срок уборки							
4 часа	Вегетативн. рост	66,8	5,2	0,8	72,8	25,6	1,11
6 часов	То же	163,3	10,0	5,1	178,4	131,2	1,33
8 „	„	260,0	23,7	13,3	296,0	248,8	1,49
12 „	Зеленые бобы	323,4	9,5	4,1	337,0	289,8	2,70
8 часов естеств. освещения+12 часов электрического	То же	98,2	4,0	0,8	103,0	55,8	1,55
12 часов естеств. освещения+12 часов электрического	Засохшие бобы	111,1	3,6	0,9	115,6	68,4	1,66
Естеств. освещение (контроль)	Зеленые бобы	422,6	9,3	4,1	436,0	388,8	2,98

* Добавлено азота при набивке сосудов в количестве 47,5 мг на сосуд.

вого укороченного дня ими фиксировано соответственно: 1,86—2,70 мг; 1,12—1,49 мг; 0,81—1,33 мг и 0,20—1,11 мг атмосферного азота. При непрерывном же освещении растений азотфиксирующая активность бактерий была еще ниже и отвечала только 0,39—1,55 мг азота на 1 мг веса клубеньков.

В соответствии с изменениями азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий меняется и урожай гороха, что легко установить из данных табл. 4.

При микроскопировании клубеньков гороха, произраставшего при разной длине светового дня, было обнаружено, что как при коротком, так и при естественном дне клубеньковые бактерии гороха имеют вид изогнутых и ветвящихся бактероидов с интенсивно и равномерно окрашивающейся плазмой, а на непрерывном освещении — наряду с бактероидами, имею-

Таблица 4

Влияние продолжительности освещения растений гороха (сорт „Капитал") на урожай (воздушносухой массы) и образование клубеньков

(Средние данные из трех повторностей)

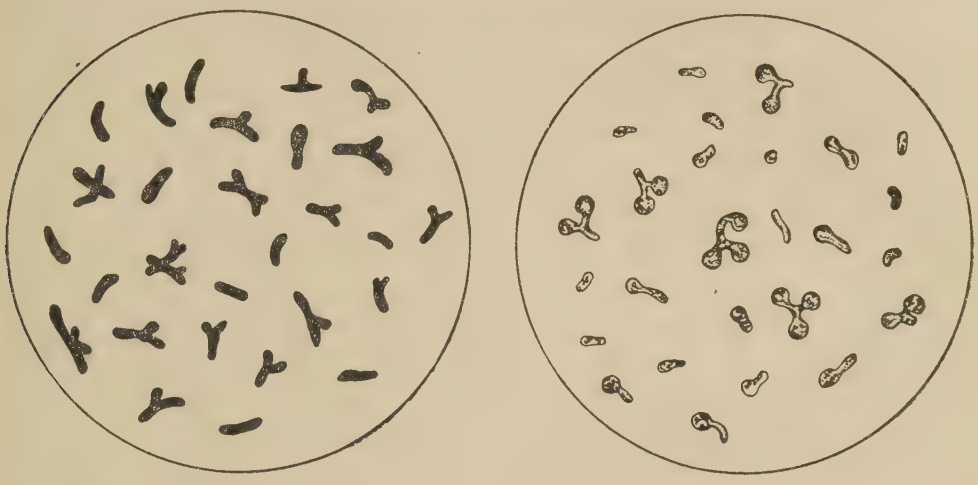
Продолжительность светового дня	Урожай в г							
	Инокулированные растения на 0,1 нормы азота				Неинокулированные растения на полной норме азота			
	надземная часть	корни	клубеньки	общий урожай	надземная часть	корни	клубеньки	общий урожай
Первый срок уборки								
4 часа	1,74	0,18	0,016	1,93	2,00	0,19	0	2,19
6 часов	3,04	0,36	0,056	3,45	3,44	0,39	0	3,83
8 „	3,93	0,58	0,099	3,52	4,40	0,63	0	5,03
12 „	4,96	0,37	0,064	5,39	5,51	0,42	0	5,93
18 часов естеств. освещения +16 часов электрического	2,72	0,32	0,029	3,07	3,23	0,37	0	3,60
12 часов естеств. освещения +12 часов электрического	2,85	0,31	0,030	3,19	3,44	0,36	0	3,80
Естеств. освещение (контроль)	6,34	0,39	0,076	6,80	6,89	0,44	0	7,33
Второй срок уборки								
4 часа	2,08	0,25	0,023	2,35	2,58	0,29	0	2,87
6 часов	4,72	0,50	0,098	5,32	5,11	0,54	0	5,65
8 „	6,47	0,79	0,167	7,42	6,82	0,84	0	7,66
12 „	8,04	0,53	0,103	8,67	8,33	0,57	0	8,90
8 часов естеств. освещения +16 часов электрического	3,89	0,43	0,036	4,35	4,59	0,48	0	5,07
12 часов естеств. освещения +12 часов электрического	4,22	0,43	0,041	4,69	5,03	0,49	0	5,52
Естеств. освещение (контроль)	0,57	0,55	0,130	1,25	10,95	0,60	0	11,55

щими раздутые концы, встречаются и мелкие шаровидные клетки с сильно выраженной зернистостью протоплазмы. Такой вид имеют бактерии в клубеньках гороха, развивавшегося при укороченном дне или же при естественном дне, только к концу вегетационного периода, когда клубеньковые бактерии заканчивают цикл своего развития.

Повидимому в условиях непрерывного освещения растений происходит преждевременное старение бактерий, сопровождающееся сильным изменением формы клетки и структуры ее протоплазмы. Такого рода клетки и обладают слабой азотфиксирующей активностью. Морфологические различия между клубеньковыми бактериями,развивающимися в клубеньках растений, произрастающих при разной продолжительности светового дня, показаны на рис. 2.

Результаты опытов с клубеньковыми бактериями гороха также показывают, что вегетативный тип развития растений способствует увеличению веса клубеньков, а репродуктивный тип развития приводит к падению их веса. Однако увеличение веса клубеньков при укороченном дне

не сопровождается увеличением азотфиксирующей активности бактерий. Наиболее активно они фиксируют атмосферный азот при выращивании растений в условиях естественной длины дня, что отличает горох от сои. При непрерывном же освещении растений и здесь наблюдается падение



а *б*

Рис. 2.

а —клубеньковые бактерии в клубеньках гороха, произраставшего при естественной длине светового дня (первый срок уборки урожая). Фиксированный и окрашенный препарат. *б*— то же самое при произрастании растений при непрерывном освещении

как веса клубеньков, так и азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий, если последняя выражается на единицу веса клубеньков. Очевидно, клубеньковые бактерии гороха, так же как и сои, в условиях непрерывного освещения не получают от растения достаточного количества углеводов и рано подвергаются старению. Это и приводит к снижению их азотфиксирующей активности. Для гороха, как растения северного происхождения, естественной длиной дня является длинный, 16—18-часовой день. При таком световом дне горох нормально зацветает, и его симбиотические взаимоотношения с клубенковыми бактериями складываются наиболее благоприятно для использования азота атмосферы.

Для получения более достоверных данных о влиянии длины дня на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий сои наши исследования были продолжены и в следующем году. В опытах второго года была использована соя «Харбинская 231-а», растение короткого дня, резко реагирующее на изменение длины светового дня. Инокулированные и неинокулированные растения выращивались в вегетационных сосудах, вмещавших 4 кг кварцевого песка. Питательной средой служила смесь Гельригеля, содержащая азот в форме азотнокислого кальция (335 мг азота на сосуд при полной норме). Бор добавлялся в количестве 1 мг на 1 кг песка, а молибден в количестве 0,5 мг. Влажность поддерживалась на уровне 60% от полной влагоемкости, инокулированные растения выращивались по фону 0,1 нормы азота (33,5 мг азота на сосуд), а неинокулированные — по фону полной нормы азота (335 мг на сосуд). Стерилизация семян и песка производилась так же, как и в предыдущих опытах. Повторность опытов была шестикратной. В каждом сосуде выращивалось четыре растения. Укорочение естественного дня создавалось путем накрывания сосудов большими светонепроницаемыми ящиками в вегетационном домике. Для устранения перегрева растений ящики сверху оклеивались светлой бумагой. Непрерывный день составлялся из 12 часов естественного освещения и 12 часов электрического освещения (освещенность

Таблица 5

Влияние длины светового дня на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках сои (сорт „Харбинская 231-а")

(Средние данные из трех повторностей)

Продолжительность светового дня	Фаза развития растений	Накоплено азота * в растениях в мг				Фиксировано азота атмосферы в мг	
		надземная часть	корни	клубеньки	во всем растении	всего	на 1 мг веса клубеньков
Первый срок уборки							
4 часа	Цветение	31,6	6,15	1,12	38,8	5,3	0,19
6 часов	„	72,4	12,6	4,7	89,7	56,2	0,67
8 „	„	132,2	30,7	13,4	176,3	142,8	0,79
12 „	„	178,2	25,6	17,2	221,0	187,5	0,78
12 часов естеств. освещения+12 часов электрического	Вегетативный рост	153,8	23,4	10,4	187,6	154,1	0,42
Естеств. освещение (контроль)	То же	188,2	31,5	25,6	245,3	211,8	0,49
Второй срок уборки							
4 часа	Зеленые бобы	46,4	6,6	1,4	54,4	20,9	0,61
6 часов	То же	96,4	13,6	4,5	114,5	81,0	0,78
8 „	„	171,0	30,1	10,8	211,9	178,4	0,86
12 „	„	206,3	35,0	14,9	264,2	230,7	0,80
12 часов естеств. освещения+12 часов электрического	Вегетативный рост	180,9	25,4	22,2	228,5	195,0	0,30
Естеств. освещение (контроль)	Цветение, зеленые бобы	288,7	39,1	20,3	288,1	254,6	0,36

* Добавлено азота при набивке сосудов в количестве 33,5 мг на сосуд.

около 10 тыс. люксов от лампы накаливания). Полученные в ходе этих опытов результаты приводятся в табл. 5.

Из этих данных также с определенностью следует, что клубеньковые бактерии наиболее активно фиксируют атмосферный азот в условиях укороченного дня. На единицу веса клубеньков в оба срока уборки растений наибольшее количество азота фиксировано в тех вариантах опыта, где растения выращивались на 6—12-часовом световом дне. Наиболее низкой оказалась азотфиксирующая активность бактерий при непрерывном освещении растений.

Микроскопическое исследование содержимого клубеньков, образованных соей («Харбинская 231-а») при различных условиях освещения, показало, что при естественной длине дня, а также 12- и 8-часовом освещении растений бактерии имеют вид крупных (4,5—5,0μ) палочек, протоплазма которых интенсивно окрашивается красками. В клубеньках же растений, получавших 4 и 6 часов естественного освещения, а также непрерывное освещение, они имели вид мелких (2,5—3,0μ) палочек и даже

кокков с зернистым содержимым. Таким образом, и в этом опыте низкая азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий была связана с их морфологическим и цитологическим состоянием клеток. Только в тех случаях они активно фиксировали азот атмосферы, когда находились в стадии бактероидов (рис. 3).

Данные по урожаю полностью подтверждают данные по азотфиксирующей активности бактерий.

Судя по результатам наших исследований, следует полагать, что чем дольше удерживается бактериями бактероидная стадия их развития, тем

а *б*

Рис. 3.

а — клубеньковые бактерии в клубеньках сои «Харбинская 231-а», произраставшей при естественной длине светового дня (первый срок уборки урожая). Фиксированный и окрашенный препарат. *б* — то же самое при произрастании растений при непрерывном освещении

большие количества атмосферного азота и усваиваются ими. На укороченном и естественном дне клубеньковые бактерии сои проходят нормальный цикл своего развития и весьма активно фиксируют азот атмосферы. При непрерывном же освещении растений нарушаются симбиотические взаимоотношения между бактериями и растениями и изменяется цикл развития бактерий, что, в свою очередь, приводит к понижению их азотфиксирующей активности. Наиболее вероятным объяснением этих явлений следует считать предположение, что в условиях непрерывного освещения растений нарушается снабжение бактерий достаточными количествами углеводов вследствие затрудненного оттока их из листьев. Благодаря этому бактерии быстро проходят цикл своего развития и начинают проявлять признаки преждевременного старения и дегенерации. При таком состоянии клеток они не способны активно усваивать атмосферный азот.

Поскольку длина светового дня оказывает большое влияние на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий и количество усваиваемого ими азота из атмосферы, при районировании бобовых растений следует учитывать их фотопериодическую реакцию. Только при этом условии можно добиться максимального усвоения азота атмосферы клубеньковыми бактериями.

Выводы

1. Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий сои и гороха в клубеньках находится в зависимости от длины светового дня, при

котором выращиваются эти растения. В зависимости от условий их освещения меняется снабжение бактерий углеводами, и это приводит, в свою очередь, к изменениям в цикле развития бактерий и их азотфиксирующей активности.

2. Репродуктивный тип развития бобового растения, получающийся при 15—17-часовом дне у гороха и 8—12-часовом дне у сои, приводит к уменьшению веса клубеньков, но к увеличению азотфиксирующей активности бактерий, выраженной на единицу веса клубеньков.

3. Вегетативный тип развития растений, получающийся при 8-часовом дне у гороха и 15—17-часовом дне у сои, способствует увеличению веса клубеньков, но снижает азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий, выраженную на единицу веса клубеньков.

4. Во всех случаях нарушенного симбиоза бактерий с растениями наблюдаются резкие морфологические и цитологические изменения в клетках клубеньковых бактерий. При недостатке углеводов они быстро проходят стадии своего развития, начинают проявлять признаки преждевременного старения и мало усваивают азота из атмосферы.

5. Следует считать, что азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий зависит от состояния протоплазмы их клеток, которое в свою очередь зависит от условий, имеющихся в клубеньках бобовых растений. Наиболее активная фиксация азота атмосферы осуществляется ими в стадию бактероидов, и все факторы внешней среды, способствующие более продолжительному сохранению этой стадии, будут, видимо, благоприятно отражаться на азотфиксирующей активности бактерий.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 16.XI.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородулина Ю. С. Сортовые особенности бобового растения как фактор, определяющий заражение его клубеньковыми бактериями. Тр. Всес. ин-та с.-х. микробиологии, **12**, 92, 1951.
2. Лысенко Т. Д. Агробиология. Сельхозгиз, 1948.
3. Мошков Б. С. Фотопериодизм и симбиоз бобовых растений с азотоусваивающими бактериями. ДАН СССР, XXII, 189, 1939.
4. Туманов И. И. Развитие исследований по фотопериодизму растений и их современное состояние. Тр. Ин-та физиологии растений, **1**, 17, 1947.
5. Федоров М. В. и Подъяпольская В. Л. Влияние условий выращивания бобовых растений на образование клубеньков и урожай растений. ДАН СССР, LXXVII, 121, 1951.
6. Чайлахян М. Х. и Меграбян А. А. Влияние длины дня на образование клубеньков на корнях бобовых растений. ДАН СССР, XLIII, 457, 1945.
7. Eaton E. Effects of variation in day-length and clipping of plants on nodule development growth of soybean. Bot. Gazet., **91**, 113, 1931.
8. Leonard L. A preliminary note on the relation of photosynthetic carbohydrate to formation of soybeans. J. Amer. Soc. Agr., **18**, 1012, 1926.
9. Orcutt F. a. Fred E. Light intensity as an inhibiting factor in the fixation of atmospheric nitrogen by Manchu soybeans. J. Amer. Soc. Agr., **37**, 550, 1935.
10. Thornthon H. The early development of the root nodule of lucerne. Ann. Bot., **44**, 385, 1930.
11. Wilson J. Nodule production of etiolated vetch seedlings. Phytopath., **21**, 1083, 1931.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТКИ BAC. MESENTERICUS ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИБИОТИКОВ АКТИНОМИЦЕТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Г. К. Скрябин

Успех использования в медицинской и ветеринарной практике антибиотиков привлек внимание к изучению механизма действия последних на бактериальную клетку. Некоторые стороны механизма действия антибиотиков на бактериальную клетку могут быть вскрыты в результате изучения морфологических изменений, вызываемых ими в микробной клетке.

Целью настоящего исследования являлось изучение специфики действия некоторых антибиотиков на клетки Bac. mesentericus.

Использование Bac. mesentericus в качестве тест-культуры определялось ее чувствительностью ко всем испытанным антибиотикам, подвижностью и способностью образовывать споры. Этим она была удобна для выяснения реакции клетки на воздействие разных доз антибиотика.

Основные опыты были поставлены с тремя антибиотиками: двумя актиномицетного происхождения — мицетином и стрептомицином и одним грибного — аспергиллином. Кроме того, для проверки некоторых выводов были использованы новые антибиотические препараты актиномицетного происхождения № 108, 111, 135 и 146 из лаборатории Н. А. Красильникова.

Все антибиотики актиномицетного происхождения применялись в виде химически очищенных порошков, аспергиллин — в виде спиртового экстракта культуральной жидкости продуцента — Aspergillus niger.

Изучение действия антибиотиков на клетки картофельной палочки проводилось как на твердых, так и на жидких питательных средах.

Методика

Первая серия опытов была проведена на МПА.

На поверхность свежеприготовленного в чашках Петри газона культуры Bac. mesentericus наносилась одна капля раствора антибиотика определенной концентрации. Затем чашки инкубировались в термостате при 37° в течение 18 часов. Вокруг нанесенной капли антибиотика, в результате его антибиотического действия, образовывалась зона отсутствия роста. Полученные зоны исследовались макро- и микроскопически. Для изучения реакции клеток на воздействие антибиотиков готовились препараты-отпечатки из разных участков зоны отсутствия роста. Контролем служили клетки, расположенные в зоне нормального роста — вне сферы влияния антибиотика.

Вторая серия опытов проводилась на МПБ.

Одна петля 18-часовой культуры Bac. mesentericus вносилась в пробирки с МПБ, к которому прибавлялись антибиотики в разных концентрациях. Пробирки выдерживались при 37°. В первые 18 часов инкубации препараты из культур готовились через каждый час, в дальнейшем — через каждые 8 часов в течение трех суток.

При изучении действия мицетина на Bac. mesentericus мы пользовались также методом наблюдения в висячей капле. При этом непрерывное наблюдение проводилось в течение 12 часов.

Результаты исследований

Наблюдения на твердых средах

Общеизвестно, что при воздействии антибиотиков на клетки чувствительных к ним культур микроорганизмов, посеянных на твердые среды, образуются зоны отсутствия роста. Образование подобных зон имело

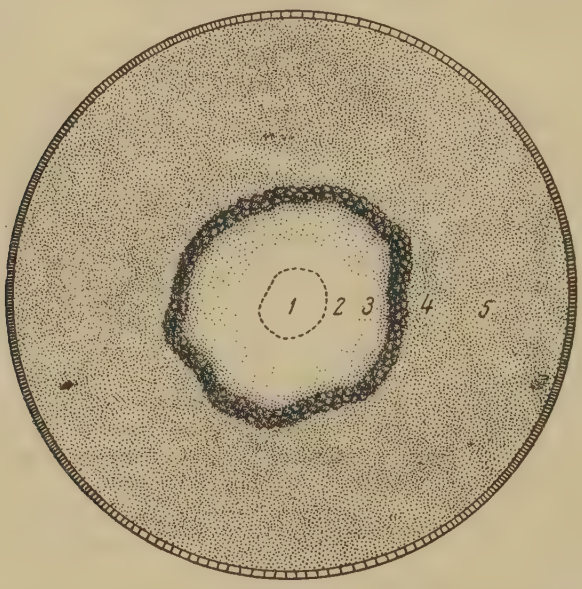


Рис. 1. Схема расположения участков в зоне действия антибиотиков.

1 — участок полного отсутствия роста; *2* — авизуальный рост; *3* — участок угнетенного роста; *4* — зона стимуляции роста; *5* — зона нормального роста

место и при действии на культуру Bac. mesentericus всех взятых нами антибиотиков.

Микроскопическое изучение зон отсутствия роста показало, что последние разделяются на участки, которые существенно отличаются друг от друга по характеру роста в них клеток Bac. mesentericus.

Зоны, полученные при воздействии указанных выше антибиотиков на Bac. mesentericus, разделялись на следующие участки (рис. 1):

а) участок полного отсутствия роста (стерильный);

б) участок авизуального роста — рост культуры не виден невооруженным глазом, но отчетливо выявляется под микроскопом;

в) участок угнетенного роста — культура дает едва видимый налет;

г) участок стимуляции роста, непосредственно за которым наблюдается нормальное развитие культуры.

Изучение особенностей образовавшихся зон показало, что при воздействии различных антибиотиков характер их разный. При действии мицетина и препарата № 111 всегда наблюдается наличие участка стимуляции роста тест-культуры, тогда как при действии стрептомицина в наших опытах он отсутствовал.

Отмечено, что указанные участки при действии одних антибиотиков имеют резкие границы, а при действии других — стертые. При действии мицетина особенно четко и резко выступает граница участка стимуляции с участком угнетения (рис. 2). В то же время при действии стрептоми-

цина образующиеся участки не имеют резких границ, а переходят друг в друга постепенно (рис. 3).

Участок авизуального роста не всегда обнаруживается; это явление часто наблюдалось при действии мицетина.

В помещаемой таблице сведены данные опытов по изучению разных участков в зонах действия антибиотиков на сплошной газон Bac. mesentericus.

Антибиотики	Стерильный участок	Участок авизуального роста	Участок угнетения	Участок стимуляции
Стрептомицин . . .	+	—	+	—
Мицетин	+	+ —	—	+
№ 108	+	—	+	+
№ 111	+	+	+	+
№ 146	+	—	+	+
№ 135	+	—	—	+
Аспергиллин	+	—	+	+

Примечание. + обозначает наличие, а — отсутствие данного участка; + — непостоянство в образовании этого участка.

Изучение клеток, расположенных в зоне нормального роста и в различных участках зон действия антибиотиков, показало следующее:

а) Стерильный участок. Пользуясь методом отпечатков или непосредственным наблюдением под микроскопом, мы обнаружили следующее: на поверхности агара чаще всего лежат отдельные клетки посевного материала. Эти клетки внешне не изменены, они как бы «зафиксированы». В некоторых случаях встречаются клетки со спорами. Иногда обнаруживаются скопления мелкозернистой детритной массы — продукта распада клеток. В стерильных зонах антибиотика № 108 и мицетина этот детрит очень напоминает глыбки экстрабактериальной массы, описанные Красильниковым [1].

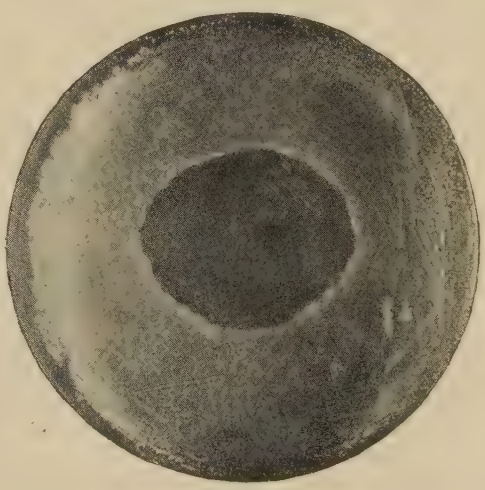


Рис. 2. Действие мицетина на Bac. mesentericus

б) Участок авизуального роста. Как указывалось в табл. 1, авизуальный рост отмечался нами только при воздействии двумя антибиотиками — мицетином и № 111. В этом участке наблюдаются слегка удлиненные и сжатые клетки, расположенные попарно, иногда кучками. Длина клеток доходит до 7—15 μ, размер поперечника — 0,7—0,8 μ. Клетки со спорами единичные, чаще споры отсутствуют вовсе. В авизуальном участке зоны мицетина встречаются уже указанные выше глыбки мелкозернистой массы. Эти глыбки представляют собой мельчайшие колонии диаметром от 35 до 70 μ, состоящие из кокковидных или палочковидных клеточных элементов, размером не превышающих 0,3 μ в поперечнике. При последующих пересевах они, как правило, дают слабый рост или совсем не прорастают. Удается сохранить их только в двух-трех пересевах.

в) Участок угнетенного роста. В этом участке зоны клетки всегда значительно удлинены (9—10 μ) и уплощены (0,6—0,7 μ). Встречаются единичные клетки со спорами; при переносе клеток в жидкую среду они не проявляют подвижности. При действии мицетина протоплазма клеток в участке угнетения содержит много зерен, резко преломляющих свет. При действии антибиотика № 111 клетки имеют совершенно иной вид. Все они едва видимы под микроскопом и похожи на клетки, потерявшие свое содержимое, напоминая «тени» клеток, описанные в работе Троицкого и Першиной [5].

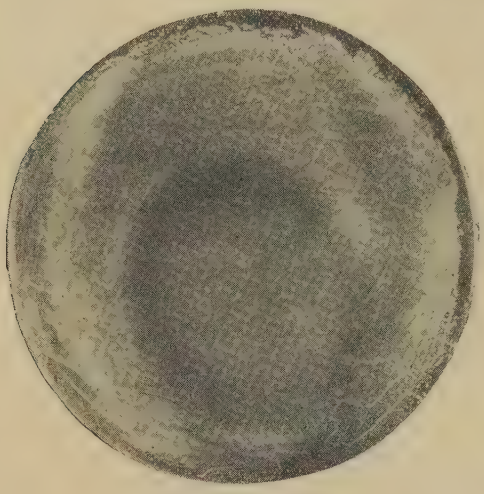


Рис. 3. Действие стрептомицина на Bac. mesentericus

г) Участок стимуляции роста. В этом участке клетки имеют более удлиненную форму и образуют длинные цепочки.

В окрашенных препаратах длина клеток при воздействии мицетина доходит до 40—60 μ, а отдельных цепочек превышает 150 μ. При действии антибиотиков № 111, 135, 146 клетки увеличены в 2—4 раза. Клетки во всех этих случаях имеют светлую протоплазму, содержащую зернышки на полюсах. Эти зернышки хорошо красятся метиленовой синью. Наряду с этим в протоплазме некоторых клеток имеются крупные хроматиноподобные включения. Часть клеток плазмолизирована, некоторые клетки искривленные, есть «клетки-тени», представляющие собой как бы чехлы клеток, лишенных своего содержания. Спор во всех опытах нам обнаружить не удалось. Между тем в участках нормального роста они всегда были. В зоне стимуляции антибиотика № 108 клетки по всей длине не изменены, а поперечник даже слегка увеличен.

При воздействии аспергиллином, в отличие от антибиотиков актиномицетного происхождения, клетки в участке стимуляции сильно укорочены, протоплазма грубозернистая, хорошо преломляет свет. Вся масса клеток имеет грубый вид. Как исключение встречаются слегка удлиненные клетки, очень сплющенные, плохо преломляющие свет.

Зона нормального роста (контроль). Клетки палочковидные. Протоплазма светлая, однородная, с возрастом появляется мелкая зернистость и крупные зерна на полюсах. Длина клеток 6—8 μ, размер поперечника 0,9—1,0 μ. При переносе клеток петлей в жидкую среду наблюдается хорошо выраженная подвижность. Много делящихся клеток и спор. Часто клетки соединены в нити, состоящие из 2—4—5 палочек, содержащих, как правило, спору.

Как видно из изложенного, клетки в зоне действия антибиотика резко отличаются от клеток зоны нормального роста. При этом, в зависимости от антибиотика, клетки, расположенные в одноименных участках, неоднородны морфологически.

Наблюдения на жидкой среде

При изучении действия антибиотических веществ в жидкой среде выяснено, что все испытанные антибиотики оказывают бактериостатическое и бактерицидное действие в зависимости от их концентрации.

При контакте любого из испытанных антибиотиков с клетками Bac. mesentericus сразу же наблюдалось прекращение движения клеток, потеря способности к споруляции и появление инволюционных форм, кото-

рые наблюдались Крупиным [3] и Першиной [4] при изучении ими действия грамицидина С и пенициллина.

При просмотре препаратов мы имели возможность наблюдать коагуляцию, автолиз и лизис клеток — те посмертные цитологические изменения, которые были описаны Криссом и Бирюзовой [2] в их работах по изучению действия грамицидина С.

Следует отметить, что явно выраженные автолиз и лизис мы наблюдали только при воздействии антибиотиков № 111, 135 и мицетина.

При изучении действия больших доз мицетина в жидкой среде было обращено внимание на закономерное появление в пробирках хлопьевидного осадка, состоящего из мелкозернистой массы. В целях выяснения условий образования этого осадка проводились последовательные наблюдения за культурой в висячей капле.

Оказалось, что уже в результате 30-минутной экспозиции мицетина в концентрации 200 ед/мл прекращается размножение, споруляция и движение клеток. Клетки заметно утончаются и резко удлиняются.

Содержимое клетки уплотняется. Образуются крупные, темные, компактные зерна, резко преломляющие свет. Литическое действие антибиотика в этих дозах не обнаруживается.

При воздействии бóльших доз мицетина (начиная от 800 единиц в 1 мл и выше) клетки еще более утончены и слегка удлинены, слабо, а иногда и почти совсем не преломляют свет. Количество «клеток-теней» значительно увеличивается. Имеются совсем лизированные клетки. При окраске препаратов на жир в протоплазме отдельных клеток видны ясно контурированные капли жира.

При увеличении времени действия и концентрации мицетина наблюдается нарушение целости оболочки клетки и выход ее содержимого в виде детрита.

В контрольной культуре подвижность клеток выражена хорошо; имеются отдельные клетки со спорами. Протоплазма светлая, мелкозернистая.

Через 90 минут, при концентрации мицетина в 800 ед/мл, в препарате преобладают утонченные, слабо заметные клетки, окруженные мелкозернистой детритной массой. Количество сохранившихся бактериальных клеток невелико.

При еще больших концентрациях мицетина (2500, 5000, 7500 ед/мл) клетки теряют контурность, протоплазма их мутнеет, затем распадается на мелкозернистую массу, в которой встречаются единичные зерна хроматина и метахроматина. Уже через 30 минут под влиянием этих доз мицетина оформленных клеток почти нет. Остается очень много зернистой массы, среди которой иногда можно наблюдать остатки лизированных клеток.

Столь постоянное обнаружение значительного количества зернистой массы в МПБ вызвало у нас предположение — не образуется ли она за счет свертывания белка среды.

Проведенные опыты показали, что внесение мицетина в МПБ при отсутствии в нем бактериальных клеток не вызывает выпадения осадка. Осадок не образовывался и в тех случаях, когда смешивали МПБ с живыми и убитыми кипячением клетками Bac. mesentericus. При действии высоких доз мицетина на живые клетки Bac. mesentericus во всех случаях наблюдалось образование мелкозернистой массы. Образование детритной массы может происходить, хотя и в слабой степени, при воздействии мицетина и на предварительно убитые кипячением клетки.

Результаты этих опытов дают основание утверждать, что мелкозернистая масса образуется в результате распада содержимого клетки под влиянием мицетина.

Следует отметить, что проявление специфичности антибактериального действия разных антибиотиков мы наблюдали не только по отношению

к примененной нами культуре — Bac. mesentericus, но и по отношению к другим микроорганизмам — кишечной палочке, стафилококкам и др.

Литическое действие некоторых антибиотических веществ сопровождается образованием так называемой мелкозернистой или детритной массы, среди которой обнаруживаются единичные зерна хроматина.

Проведенные наблюдения показали, что среди этой детритной массы имеются элементы, способные в определенных условиях к регенерации. Возможно, что за их счет образуются и резистентные к данному антибиотику формы.

Выводы

1. Изучено антибактериальное действие шести антибиотиков актиномицетного происхождения и одного грибного на Bac. mesentericus.
2. Установлено, что образующиеся под влиянием антибиотиков на газоне тест-культуры зоны угнетения роста неоднородны. Эти зоны включают в себе участки: отсутствия роста, авизуального роста, угнетения и стимуляции.
3. Клетки Bac. mesentericus, расположенные в разных участках зоны угнетения роста, отличаются своей морфологией в зависимости от свойств антибиотика.
4. Антимикробное действие антибиотиков у Bac. mesentericus вызывает в первую очередь прекращение активного движения, затем утерю способности к спорообразованию и массовое образование инволюционных форм.
5. Бактерицидные дозы некоторых антибиотиков вызывают распад клетки, причем содержимое ее превращается в мелкозернистую детритную массу, которая в жидких культурах образует хлопьевидный осадок. Подобный же распад под воздействием некоторых антибиотиков наблюдается и в убитых нагреванием клетках.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 19.I.1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Экстрабактериальная субстанция и фильтрующиеся формы. Микробиология, VII, вып. 9—10, 1050, 1938.
2. Крисс А. Е. и Бирюзова В. И. Автолиз и лизис бактериальной клетки. Журн. общ. биологии, XI, вып. 5, 381, 1950.
3. Крупин Н. В. Влияние грамицидина С на морфологию и физиологию микробов. Микробиология, XVII, вып. 3, 263, 1948.
4. Першина З. Г. Морфологические изменения бактерии кишечной группы под влиянием пенициллина. Журн. микроб., эпидемиол. и иммунобиологии, вып. 7, 68, 1952.
5. Троицкий В. Л. и Першина З. Г. Об образовании лекарственно-устойчивых форм бактерий. Журн. микроб., эпидемиол. и иммунобиологии, вып. 9, 23, 1949.

АКТИНОМИЦЕТЫ КАК АНТАГОНИСТЫ

Е. Н. Алешина и *Л. Н. Макаровская*

Вопрос об антагонистических взаимоотношениях актиномицетов с другими микроорганизмами, имеющий большое теоретическое и практическое значение, изучался многими исследователями.

Первые систематические работы в этой области были проведены советскими микробиологами — Бородулиной [1], Нахимовской [8, 9], Новогрудским [10], Красильниковым [3, 4, 5], Криссом [7] и др. Большое внимание данной группе организмов уделил Ваксман [2].

Антагонистическое действие актиномицетов проявляется на многих микроорганизмах.

Различия антагонистического действия у разных видов актиномицетов впервые показали Красильников и Кореняко [6].

По данным Красильникова [5], антагонисты составляют 30—40% всех культур актиномицетов, выделенных из почв и других субстратов, а среди таких видов, как Act. violaceus, Act. griseus, Act. auranticus, количество их доходит до 60—70%.

Задачей данного исследования явилось изучение антагонистических свойств актиномицетов, выделенных из почв юго-восточной зоны Советского Союза, по отношению к различным патогенным микроорганизмам, причем особое внимание было уделено чумному микробу.

Пробы почв брались из садов, парков, кладбища, пастбищных участков и т. д. При выделении из почвы актиномицетов была использована общепринятая методика.

Всего было выделено 1117 штаммов актиномицетов. Эти штаммы выращивали на синтетических и белковых средах и на основании морфологических особенностей (характер и форма спороносцев и спор), физиологических и антагонистических свойств определяли их принадлежность к различным видам.

Из выделенных актиномицетов наиболее часто встречались такие виды, как Act. griseus, Act. globisporus, Act. albus, Act. flavus, Act. coelicolor.

Физиологическая активность актиномицетов испытывалась по отношению к желатине, молоку, крахмалу, нитратам.

Проверяя физиологическую активность актиномицетов, мы обнаружили у нескольких штаммов Act. griseus, Act. flavus и одного штамма Act. violaceus феномен, описанный Криссом [7] по отношению к видам Act. ruber, Act. longisporus ruber и его варианту. Данные штаммы, засеянные в молоко, вызывали первоначально потемнение молока, а затем превращали его в черную дегтеобразную массу.

При изучении антагонистических свойств в качестве тест-объектов были использованы культуры стафилококка и чумного микроба.

Для этого из тест-микробов готовили суспензии, содержащие 500 млн. микробных тел в 1 мл по оптическому стандарту. Каплю такой суспензии наносили на поверхность агара и растирали шпателем. На приготовленные газоны накладывали кусочки картофеля, на котором выращивались актиномицеты (верхняя часть их вместе с культурой предварительно срезалась) или кусочки агаризованной среды вместе с выросшей на ней колонией. Посевы помещали на двое суток в термостат при температуре 28°. Об антагонистических свойствах актиномицетов судили по зонам отсутствия роста микроорганизмов вокруг кусочков картофеля или агара.

Из общего количества 1117 штаммов актиномицетов 483 штамма, т.е. 44%, явились антагонистами по отношению к стафилококку и 217 штаммов, т. е. 19,4%,— к чумному микробу.

Наибольшее количество антагонистов к чумному микробу встречалось среди видов: Act. griseus, Act. globisporus, Act. violaceus, Act. chromogenes.

Как известно, для выявления антагонистических свойств актиномицетов имеет большое значение состав питательной среды. В связи с этим было проведено параллельное исследование штаммов, выращенных на синтетических и белковых средах. В результате обнаружены штаммы, продуцирующие антибиотические вещества только на синтетических средах или только на белковых, причем одни продуцировали на мясо-пептонном агаре, другие — на агаре Хоттингера, а третьи и на мясо-пептонном и на агаре Хоттингера. И наконец, встречались штаммы, обладающие способностью вырабатывать эти вещества и на синтетических и на белковых питательных средах.

Штаммы, обладающие выраженными антагонистическими свойствами по отношению к стафилококку и чумному микробу (на синтетическом агаре), были дополнительно проведены через ряд питательных сред: синтетический агар с сахарозой, синтетический агар с глюкозой, мясо-пептонный агар с солями железа, цинка и глюкозой, агар Хоттингера, почвенный и водный агар.

Полученные результаты суммированы в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, только у одного штамма, Act. griseus 201, антагонистические свойства проявляются в той или иной степени на всех испытанных питательных средах. У других же, например Act. griseus 33, на синтетическом агаре с сахарозой и почвенном агаре антагонистические свойства наблюдаются как по отношению к стафилококку, так и по отношению к чумному микробу. На синтетической среде с глюкозой и водном агаре они сохраняются к стафилококку, а к чумному микробу — утрачиваются, на мясо-пептонном агаре — совсем не проявляются; на мясо-пептонном агаре с солями цинка и железа выражены к стафилококку и совсем не обнаружены к чумному микробу. На агаре Хоттингера антагонистические свойства к стафилококку утрачены, а к чумному микробу сохранены, и т. д.

Данные табл. 1 подчеркивают зависимость антагонистических свойств актиномицетов от состава питательной среды и показывают, что для испытанных культур наилучшими средами являются синтетический агар с сахарозой и почвенный агар.

У многих штаммов, в основном антагонистов к чумному микробу, было изучено отношение к целому ряду грамотрицательных микроорганизмов, Br. melitensis, Br. abortus, Bact. typhi abdominalis, Bact. coli.

Результаты этих опытов представлены в табл. 2.

Из данных этой таблицы достаточно наглядно видна избирательность антагонистических свойств актиномицетов по отношению к ряду грамотрицательных микробов. Штаммы, являющиеся антагонистами по отношению к чумному микробу, могут не оказывать никакого действия на другие грамотрицательные микроорганизмы. Следовательно, антагонистические свойства являются индивидуальной особенностью каждого отдельного штамма и зависят от целого ряда причин. В частности, в наших исследованиях большое значение имели условия выращивания и хранения их в лаборатории.

При исследовании антагонистических свойств актиномицетов, непосредственно выделенных из почвы, и после хранения их в лабораторных условиях было обнаружено, что среди Act. griseus и Act. globisporus наряду со штаммами, стойко сохраняющими антагонистические свойства, имелись штаммы, быстро теряющие эту способность, причем одни теряли ее полностью и к стафилококку и к чумному микробу, другие — только

Таблица 1

Зависимость антагонистических свойств актиномицетов от состава питательной среды

№ штамма	Актиномицеты	Питательная среда: Синтетический агар с сахарозой		Синтетический агар с глюкозой		Мясо пептонный агар		Мясо-пептонный агар + $FeSO_4$ + $ZnSO_4$ + глюкоза		Агар Хоттингера		Агар почвенный		Агар водный	
		Тест-микробы: стафилококк	чумной микроб	стафилококк	чумной микроб	стафилококк	чумной микроб	стафилококк	чумной микроб	стафилококк	чумной микроб	стафилококк	чумной микроб	стафилококк	чумной микроб
33	Act. griseus	15	8	14	—	—	—	5	—	—	5	12	5	10	—
201	„ „	13	12	11	4	10	6	10	8	8	5	12	10	4	9
202	„ „	14	10	5	—	9	3	10	—	6	3	10	8	3	8
214	„ „	8	8	4	—	10	8	10	—	10	5	6	6	4	3
370	Act. globisporus	10	8	5	—	4	—	8	—	5	—	10	10	8	4
430	„ „	10	2	5	—	—	—	3	—	7	—	10	3	5	4
648	Act. griseus	15	6	3	—	—	—	5	—	10	5	10	4	5	—
748	„ „	5	8	—	9	—	—	7	—	—	—	4	7	—	—

Примечание. Цифры показывают величину зоны просветления в миллиметрах; — отсутствие зоны просветления.

Таблица 2

Антагонистическое действие актиномицетов на некоторые патогенные микроорганизмы

№ штамма	Актиномицеты	Тест-микробы					
		P. pestis	Brucella melitensis	Brucella abortus № 18	Brucella abortus № 257	B. typhi abdominalis	B. coli
201	Act. griseus	12	2	5	3	4	4
430	Act. globisporus	3	2	3	2	5	3
202	Act. griseus	7	10	13	13	4	3
33	„ „	8	3	9	9	—	—
648	„ „	6	—	8	8	—	—
214	Act. griseus zonatus	8	3	3	2	—	—
748	Act. globisporus griseus	8	—	6	3	3	3
609	Act. griseus	5	—	3	2	—	—
746	Act. longisporus ruber	5	—	—	—	—	—
370	Act. globisporus	8	7	10	6	—	6
338	Act. griseus	5	—	—	—	—	—
344	Act. globisporus griseus	—	—	—	—	—	—
650	Act. griseus	—	—	2	2	—	—
323	„ „	—	—	—	—	—	—
294	„ „	—	—	—	—	—	—

Примечание: Условные обозначения см. табл. 1.

по отношению к чумному микробу, сохраняя свое действие на стафилококк, третьи, наоборот, теряли антагонистические свойства по отношению к стафилококку, не изменяя их к чумному микробу. И наконец, ряд штаммов при первоначальном испытании не проявляли себя как антагонисты, а спустя полгода показали выраженную антагонистическую активность.

Зависимость антагонистической способности актиномицетов от внешних условий подтверждается нашими наблюдениями над штаммом Act. griseus 650.

Этот штамм, после выделения его из почвы, обладал значительной антагонистической активностью на синтетической среде по отношению к стафилококку и к чумному микробу. Спустя полгода он потерял активность, и, несмотря на многочисленные попытки, вернуть утраченные свойства не удавалось. Во время пересевов его на синтетической питательной среде было обнаружено, что на одной из чашек колонии актиномицета изменили свою окраску. Бесцветный Act. griseus с нижней поверхности покраснел, а серый воздушный мицелий приобрел розоватый оттенок.

Тщательный просмотр посевов позволил связать измененную окраску колоний с появлением на противоположной стороне чашки культуры гриба из рода Penicillium (видовая принадлежность его не была определена); на других посевах, свободных от этой культуры, колонии оставались бесцветными. Кроме этого, можно было проследить изменение интенсивности окраски колоний, располагающихся на различном расстоянии от гриба. Чем это расстояние было меньше, тем ярче была выражена окраска. Колонии, удаленные от гриба, вначале розовели и только на седьмые сутки принимали яркокрасную окраску. Дальнейшие наблюдения показали, что Act. griseus 650 с изменением окраски изменил и антагонистическую способность. Все окрашенные колонии вернули ранее утраченное антагонистическое действие, в то время как бесцветные этого действия попрежнему не проявляли. При этом посторонняя культура антагонистическими свойствами не обладала. Повидимому, присутствие ее вызвало, в какой-

то степени, изменения качества питательной среды в благоприятную для проявления антагонистических свойств сторону. Для подтверждения этих наблюдений было проведено выращивание Act. griseus 650 совместно с различными грибами рода Penicillium. На одну половину чашки засевали актиномицет, на другую — гриб; одновременно из одной и той же колонии засевали контрольную чашку (без гриба).

В опыте колонии актиномицета, начиная с четвертых суток, краснели, воздушный мицелий принимал розоватый оттенок, на 7—10-е сутки колонии становились яркокрасного цвета. В контроле они оставались бесцветными. Исследования антагонистических свойств проводили после десятисуточного совместного выращивания.

Следует отметить, что не каждый гриб вызывал изменение окраски колоний и возвращение утраченной антагонистической способности.

Результаты проведенного опыта представлены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние грибов на антагонистическую активность актиномицетов

Культура	Опыт		Контроль					
	Антагонистические свойства			Антагонистические свойства			Антагонистические свойства	
	к стафилококку	к чумному микробу	Грибы	к стафилококку	к чумному микробу	Актиномицет	к стафилококку	к чумному микробу
Act. griseus 650 + гриб № 1	6	3	№ 1	—	—	Act. griseus 650	—	—
„ „ 650 + „ № 2	8	4	№ 2	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 3	5	3	№ 3	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 4	6	2	№ 4	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 5	8	3	№ 5	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 13	8	—	№ 13	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 14	9	—	№ 14	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 15	—	—	№ 15	—	—		—	—
„ „ 650 + „ № 16	—	—	№ 16	—	—		—	—

Примечание: Условные обозначения см. табл. 1.

Различные грибы № 1—5 (не будучи сами антагонистами) при одновременном культивировании с актиномицетом оказывали благоприятное влияние на данный штамм, активизируя антагонистические свойства к стафилококку и чумному микробу. Грибы же № 13 и 14 оказались способными активизировать антагонистические свойства только по отношению к стафилококку. Грибы № 15 и 16 не оказывали никакого влияния на антагонистическое действие Act. griseus 650.

Такие же результаты получены при совместном выращивании с грибами штаммов Act. griseus 643 и 647.

Наряду с грибами было предпринято совместное культивирование Act. griseus 650 и 643 с различными штаммами Bac. mycoides, выделенными из той же почвы. Оказалось, что культуры Bac. mycoides оказывали на Act. griseus 650 и 643 такое же действие как и грибы, т. е. активизировали антагонистические свойства и изменяли пигментацию колоний. Таким образом, совместное выращивание актиномицетов с грибами и Bac. mycoides способствовало восстановлению антагонистической активности актиномицетов, утраченной при хранении в лабораторных условиях.

Выводы

1. В почвах юго-восточной зоны Советского Союза из актиномицетов наиболее часто встречаются Act. griseus, Act. globisporus, Act. Alcus, Act. flavus, Act. coelicolor.

2. Из 1117 изученных штаммов актиномицетов 483 штамма (44%) оказались антагонистами к стафилококку и 217 (19,4%) — к чумному микробу.

3. Наибольшее количество антагонистов к чумному микробу оказалось среди штаммов Act. griseus, Act. globisporus, Act. violaceus, Act. chromogenes.

4. Проявление антагонистических свойств у актиномицетов в лабораторных условиях зависит от условий выращивания их, главным образом от состава питательной среды.

5. Хранение актиномицетов в лаборатории на искусственных питательных средах понижает их антагонистическую активность.

6. Совместное выращивание актиномицетов с некоторыми штаммами грибов и Bac. mycoides способствовало активизации антагонистической способности.

Ростовский научно-исследовательский институт
Министерства здравоохранения СССР

Получено 1.X.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородулина Ю. С. Взаимоотношения почвенных актиномицетов и Bac. mycoides. Микробиология, IV, 561, 1935.
2. Ваксман З. А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества. М., 1947.
3. Красильников Н. А. Лучистые грибки и родственные им организмы. Изд-во АН СССР, М., 1938.
4. Красильников Н. А. Определитель лучистых грибков Actinomycetales. Изд-во АН СССР, М., 1941.
5. Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. Изд-во АН СССР, М., 1950.
6. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. Бактерицидное вещество актиномицетов. Микробиология, VIII, 673, 1939.
7. Крисс А. Е. Изменчивость актиномицетов. М., 1937.
8. Нахимовская М. И. Антагонизм между актиномицетами и почвечными бактериями. Микробиология, VI, 131, 1937.
9. Нахимовская М. И. Антагонизм между бактериями. Микробиология, VII, 238, 1938.
10. Новогрудский Д. М. Об одном проявлении антимикробных свойств почвы. Микробиология, XVII, вып. 3, 1948.

О ПРОНИКНОВЕНИИ АНТИБИОТИКОВ В МНОГОЛЕТНИЕ РАСТЕНИЯ

А. Г. Кучаева и *С. А. Егорова*

Идея использования микробов-антагонистов в борьбе с заболеваниями растений давно привлекала внимание ученых.

В последние годы особое внимание стали уделять использованию для этой цели веществ, образуемых этими микробами. Первое сообщение о действии на растения антибиотических веществ было сделано Красильниковым [1]. В дальнейших работах в этом направлении рядом авторов (Андерсон и Ниноу, Anderson a. Nienow [6], Красильников [3], Мирзабекян [4] и др.) была показана возможность практического использования антибиотиков в борьбе с заболеваниями растений. Однако в этой области есть еще много неясных вопросов. До сих пор нет точных данных о закономерности распределения антибиотиков в тканях растения и об их воздействии на него. Красильниковым [2] в опытах с однолетними растениями: пшеницей, горохом, клевером — показано, что некоторые антибиотики всасываются этими растениями и могут быть обнаружены в их корнях, стеблях и листьях.

Целью настоящей работы ставилось выяснение закономерностей распределения некоторых антибиотиков в многолетних растениях. Прежде всего перед нами стояла задача выбрать для опытов такие виды растений, которые сами не содержат антибиотических веществ, действующих против выбранного тест-микроба — Staphylococcus aureus, так как наличие в них таких веществ значительно усложнило бы работу.

В этом направлении было исследовано 26 различных растений. Для установления наличия в опытных растениях антибактериальных веществ листья их промывались водой, высушивались фильтровальной бумагой и растирались в агатовой ступке до получения однородной массы. Затем комочек этой массы накладывался на свежеприготовленный в чашке Петри с МПА газон Staph. aureus 209. Чашки инкубировались в термостате при температуре 37° в течение 18—24 часов. По наличию или отсутствию вокруг наложенных комочков зоны угнетения роста Staph. aureus определялись антибактериальные свойства растения. Результаты этих опытов приведены в табл. 1. Как видно из данных этой таблицы, из 26 испытанных растений пригодными для наших целей оказались 15.

Для опытов с выбранными растениями были взяты шесть антибиотиков: ауреомицин, глобиспорин, стрептомицин, пенициллин, синтомицин и препарат № 76 актиномицетного происхождения. Характеристика их приведена в табл. 2.

Первая серия опытов была проведена с черенками или отрезанными ветками растений — персика, абрикоса, черешни, вишни, сливы, розы и сирени.

Черенки брались одного и того же размера — 50 см и опускались в раствор антибиотика. О проникновении антибиотика в растение судили по наличию его в тканях последнего. Для этого ткани растения растирались в ступке, и полученная масса накладывалась на газон тест микроба в чашке Петри с МПА. Учет проникания антибиотика в растения производился через 6 часов после постановки опыта. Из данных табл. 3 видно, что все шесть антибиотиков проникают во все испытанные растения.

Таблица 1

Бактерицидность листьев разных растений по отношению к Staphylococcus aureus

Растения	Бактерицидность
Персик обыкновенный (Persica vulgaris)	—
Персик никитский (Persica vulgaris Nicitsci)	—
Абрикос манчжурский (Armeniaca mandschurica)	—
Абрикос сибирский (Armeniaca sibirica)	—
Абрикос обыкновенный (Armeniaca vulgaris)	—
Миндаль обыкновенный (Amygdalis communis)	—
Слива домашняя (Prunus domestica)	—
Алыча (Prunus divaricata)	—
Черешня (Cerasus avium)	—
Вишня (Cerasus vulgaris)	—
Груша обыкновенная (Prunus communis)	+
Груша никитская (Prunus Nicitsci)	+
Яблоня домашняя (Malus domestica)	+
Яблоня лесная (Malus silvestris)	+
Ренет (Malus domestica var. Prasowila)	—
Шелковица белая (Morus alba)	—
Виноград винный (Vitis vinifera)	+
Виноград винный 1 (Vitis vinifera 1)	+
Роза красная (Rosa gallica)	—
Сирень (Syringa vulgaris)	—
Черемуха виргинская (Padus viriginiana)	—
Белая акация (Robina pseudo)	—
Клен остролистый (Acer platanoides)	—
Ясень (Fraxinus chinensis)	—
Дуб черешчатый (Quercus robur)	+
Тополь душистый (Populus suaveolens)	+

Примечание. + угнетает тест-микроб; — не угнетает.

Таблица 2

Характеристика антибиотиков, применяемых в опытах

Антибиотики	Активность использованных в опытах растворов антибиотиков в ед/мл	
	на черенках	на деревьях
Ауреомицин гидрохлор, кристалл.	1000	30 000
Глобиспорин хлоркальцевый комплекс	500	5 000
Стрептомицин сернокислый	500	10 000
Синтомицин	500	10 000
Пенициллин, натриевая соль	500	10 000
Препарат № 76 из лаборатории Красильникова, кристалл. вещество	1000	10 000

Примечание. Во всех опытах антибиотические вещества применялись в указанных в данной таблице концентрациях.

Лучшие результаты по активности дали исследования с пенициллином; в этих опытах получались зоны угнетения роста тест-микроба более крупные, чем от всех других антибиотиков. Хорошо проникают препарат 76, синтомицин и ауреомицин, слабее глобиспорин и стрептомицин.

Таблица 3

Проникание антибиотиков в черенки различных растений

Растения	Антибиотики						Контроль
	ауреомицин	глобиспорин	стрептомицин	синтомицин	пенициллин	препарат 76	
Персик	++	+	+	++	+++	++	—
Абрикос	+	+	+	++	+++	++	—
Черешня	+	+	+	+	++	++	—
Вишня	++	+	+	++	+++	++	—
Слива	++	+	+	+	++	+	—
Роза	++	+	+	++	+++	+	—
Сирень	+	+	+	+	++	+	—

Примечание. + зона угнетения тест-микроба до 1 см; ++ зона угнетения тест-микроба до 3 см; +++ зона угнетения тест-микроба свыше 3 см.

Во второй серии опытов, которые проводились с пенициллином на древесных породах в Главном ботаническом саду АН СССР (Москва) и в

Никитском саду им. Молотова (Крым), антибиотик вводился по методу всасывания через ватный фитиль (см. рисунок), предложенному Шевыревым [5]. Результаты опытов приведены в табл. 4. Из данных этой таблицы видно, что пенициллин проникает в ткани растений разных видов с различной интенсивностью. Так, например, в ткани клена, ясеня, липы, белой акации пенициллин не поступает или поступает в ничтожном количестве. В другие древесные породы: вишню, абрикос, персик, черешню — этот антибиотик поступает в больших количествах. Он обнаруживается в их листьях, нижней части ветвей кроны и на верхушке кроны.

В своих исследованиях мы обращали внимание на длительность пребывания в тканях растений введенного антибиотика. После того как в штамб деревьев был введен пенициллин, наблюдение велось за таким растением в продолжение длительного периода времени (до 20 дней и более). Каждый день производился анализ тканей на наличие в них активного вещества.

Результаты этих анализов даны в табл. 5. Как видно из этих данных, длительность сохранения антибиотика, введенного в ткани разных растений, различная. Наиболее длительно он сохраняется у абрикоса, раньше других исчезает из тканей черешни.

Таблица 4

Проникание пенициллина в различные растущие многолетние растения

Растения	Дата постановки опыта	Повторность	Характеристика растения			Сколько суток насыщалось растение антибиотиком	Сколько мл антибиотика поглощено	Присутствие антибиотика		Место постановки опыта
			высота в м	возраст в годах	диаметр ствола в см			низ кроны	верх кроны	
Вишня	9.VII	5	4,5	9	6,5	4	480	+	+	Московский ботанический сад
Черемуха	9.VII	2	4	15	5,8	5	210	+	—	То же
Клен	3.VII	2	3	15	8	5	20	—	—	„
Ясень	8.VII	3	4	8	7	5	15	—	—	„
Липа	14.VII	2	2,5	5	7	5	10	—	—	„
Белая акация . .	14.VII	2	3	5	7,3	5	20	—	—	Никитский ботанический сад (Крым)
Абрикос	26.VIII	3	1,6	7	5,4	5	900	+	+	То же
Персик	26.VIII	3	1,5	8	6	5	560	+	+	„
Черешня	26.VIII	3	2,1	7	6,1	5	165	+	+	„

Примечание. + антибиотик обнаружен; — не обнаружен.

Следующая серия опытов была проведена с теми же растениями с целью разрешения вопроса о секторальности поступления антибиотиков в растения. Как известно, питательные элементы, поступая в растения через корни, направляются вверх по проводящим сосудам и распределяются секторально, соответственно распределению проводящей системы. Некоторые специалисты считают, что антибиотики должны распределяться таким же образом. Решение этого вопроса имеет не только теоретическое, но и большое практическое значение. В своих исследованиях мы анализировали листья дерева со всех мест кроны, для того чтобы выявить, попадает ли введенный антибиотик во все части дерева. Эти исследования показали, что антибиотик распределяется более или менее равномерно по всему дереву (табл. 6).

Последняя серия опытов преследовала цель установить возможность проникновения пенициллина через листовую поверхность или зеленые части стебля растений. Были поставлены опыты с листьями деревьев вишни, персика и абрикоса. Листья ветки длиной 50 см непосредственно на дереве смачивались раствором пенициллина в течение 8 часов шесть раз.

Через 10 часов производился анализ листьев и стеблей растения, лежащих выше тех листьев, которые были подвергнуты обработке раствором. Результаты анализа показали, что пенициллин проник как в ветви, так и листья всех опытных деревьев, находящихся на расстоянии до 20 см от листьев, смоченных антибиотиком.

Дальше указанного расстояния пенициллин не был найден. Для выяснения возможности проникновения пенициллина через неповрежденные стебли растения были поставлены следующие опыты. Зеленые части

Таблица 5

Продолжительность сохранения пенициллина в растении

Растения	Повторность	Время насыщения растения антибиотиком в сутках	Количество потребленного антибиотика в мл	Число листьев в анализе	Число листьев с пенициллином	Время сохранения пенициллина в растении в сутках
Вишня	5	3	340	600	596	9
Абрикос	3	3	600	350	350	16
Персик	2	3	480	240	233	17
Черешня	2	3	145	200	192	5

Таблица 6

Распределение антибиотика по кроне дерева

Растения	Низ кроны		Середина кроны		Верх кроны	
	Проанализировано листьев	Число листьев с антибиотиком	Проанализировано листьев	Число листьев с антибиотиком	Проанализировано листьев	Число листьев с антибиотиком
Вишня	300	300	120	120	420	418
Персик	280	280	150	149	370	363
Абрикос	330	330	100	95	240	240

ветвей персика, абрикоса покрывались ватой, смоченной раствором антибиотика. Ватная повязка накладывалась на часть ветки длиной 10 см и затем обвязывалась пергаментной бумагой для предотвращения высыхания. Через 24 часа производилось определение присутствия пенициллина в ветвях и листьях, лежащих выше места наложения повязки. Анализ показал, что антибиотик проникает в ветви и листья выше места наложения повязки на 20 см и более.

В заключение необходимо отметить, что все испытуемые деревья, а их было 21, за весь вегетационный период, т. е. с мая по октябрь, ничем не отличались от контрольных и развивались вполне нормально.

Выводы

1. Пенициллин хорошо проникает в одни деревья (вишня, персики, абрикос, черешня) и слабо или совсем не проникает в другие (клен, ясень, липа, белая акация).

2. Введенный в штамб дерева пенициллин распределяется по всему дереву равномерно.

3. Пенициллин, введеный в растение, сохраняется в тканях персика, абрикоса до 17 дней, а в тканях черешни до 9 дней.

4. Пенициллин может быть введен в ткань дерева через листовую поверхность, а также через неповрежденные стебли дерева.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 1.XII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Антибиотические свойства микроорганизмов. Журн. общ. биологии, VIII, 1, 1947.
2. Красильников Н. А. О применении антибиотиков в растениеводстве. Вестн. АН СССР, № 1, 1954.
3. Красильников Н. А., Мирзабекян Р. О. и Аскарова С. А. Применение антибиотиков при некоторых заболеваниях у растений. ДАН СССР, LXXIX, вып. 6, 1951.
4. Мирзабекян Р. О. Действие микробов-антагонистов и их антибиотических веществ на ряд возбудителей бактериозов сельскохозяйственных растений. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 11, № 5, 1952.
5. Шевырев И. Внекорневое питание больных деревьев с целью их лечения и уничтожения их паразитов. СПб., 1908.
6. Anderson H. A. Nienow J. Effect of streptomycin on higher plants. Phytopathology, 37, No. 1, 1947.

БИОМАССА МИКРООРГАНИЗМОВ ДОННЫХ ОСАДКОВ СЕВЕРНОГО КАСПИЯ

А. И. Жукова

Сведения о микробном населении донных осадков северной части Каспийского моря в литературе очень ограничены. Данные по этому вопросу носят в основном качественный характер и являются результатом небольшого числа наблюдений, за исключением исследований последних лет.

Буткевич [1] отмечает наличие на поверхности илов в восточной части Северного Каспия плотной бактериальной пленки, состоящей из метановых, водородных, нитрифицирующих и серных микроорганизмов. Более детальная характеристика верхнего слоя донных осадков Северного Каспия содержится в работе Осницкой [8], где приводятся результаты исследования грунтов, собранных на 83 станциях в мелководных районах моря. Автор указывает титр обнаруженных им гнилостных, тионовокислых, метан- и водородокисляющих бактерий.

Все перечисленные работы не содержат данных об общем количестве микроорганизмов в грунтах Северного Каспия. Выяснение общего числа бактериальных клеток в грунтах морей необходимо как для определения характера биохимических процессов, так и для понимания роли микроорганизмов в питании беспозвоночных животных, обитающих в илу. Последнее представляет большой интерес при изучении биологии отдельных видов донных животных. В Северном Каспии знание численности бактерий в илах особенно важно, так как в связи с сооружением плотин на Волге меняется гидрологический режим и создаются новые условия существования для фауны этой части моря.

В силу высказанных выше соображений нашей задачей являлось возможно более полное изучение микроорганизмов донных осадков Северного Каспия с количественной точки зрения. Нас интересовал самый поверхностный слой грунтов, являющийся местом обитания беспозвоночных животных.

Работы проводились в течение двух лет. В июле 1951 г. обследовались прибрежные районы Северного Каспия, районы авандельт рек Волги и Урала и мелководья у островов Тюленьего, Кулалы и Долгого (83 станции). В июле 1952 г. 53 станции исследования располагались в центральной части Северного Каспия.

Пробы грунта отбирались дночерпателем Петерсена или стратометром Перфильева. Самый верхний, полужидкий слой ила и служил предметом изучения. Подсчет общего числа клеток в грунте производился по несколько измененному методу Виноградского, изложенному в работе Крисс и Рукиной [6]. Препараты для прямого счета микроорганизмов изготовлялись непосредственно после отбора проб грунта в лаборатории, организованной на исследовательском судне. При обработке препаратов нас интересовало не только общее число клеток в единице веса естественного грунта, но и их биомасса, т. е. вес бактерий, находящихся на 1 м^2 площади дна в слое толщиной 1 см.

Количество бактериальных клеток, обнаруженное нами в различных районах Северного Каспия, очень велико. Оно колеблется от нескольких сотен миллионов до миллиардов в 1 г натурального грунта.

Максимальная величина, встретившаяся в авандельте Волги в июле

1951 г., достигает 12 млрд. клеток. По сравнению с другими южными водоемами нашей страны грунты Северного Каспия должны быть признаны наиболее богатыми в отношении микробного населения (Азовское море — 23,5 — 776 млн. клеток в 1 г — Исаченко [5]; Черное море — 1,5—3 млрд. клеток в 1 г — Крисс, Рукина и Тихоненко [7]).

Для вычисления биомассы микроорганизмов делались промеры отдельных клеток, которые в морфологическом отношении были представ-

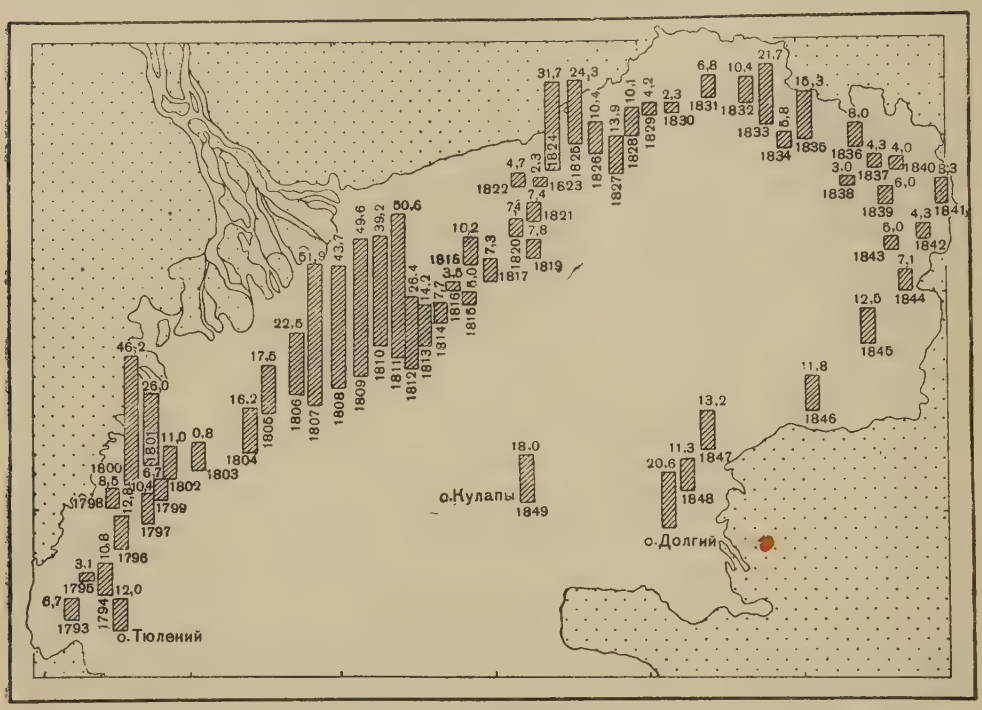


Рис. 1. Карта биомасс микроорганизмов в верхнем слое грунта (июль 1951 г.)
Верхняя цифра столбика — биомасса в г/м²; нижняя цифра — № станции

лены в основном кокками и палочками. Объем клеток вычислялся соответственно по формулам для шара или цилиндра, а удельный вес принимался равным единице. На основании этих расчетов мы имели возможность перейти от количества к весовому содержанию бактериальных клеток в единице веса натурального грунта, а затем и к величине биомассы. Результаты, полученные нами, приведены на рисунках 1 и 2 (для мелководий у островов приведены средние данные).

Различие в распределении биомассы микроорганизмов в отдельных районах вызваны определенными причинами, которые мы и попытались объяснить. На карте, относящейся к 1951 г., ясно видно резкое увеличение содержания бактериальных клеток в участках моря, расположенных около дельты Волги и у устья Урала. Максимальная величина биомассы здесь достигает 50—52 г на 1 м² площади дна в слое толщиной 1 см.

Период исследования в 1951 г. совпал с окончанием паводка Волги. Паводковые воды несут огромное количество взвеси (до 100—200 мг/л — Федосов [9]), состоящей из органических и минеральных частиц, оседание которых происходит в районах авандельты, на границе слияния пресных и соленых морских вод (Иванов [4]). Именно здесь и наблюдалось наибольшее число микроорганизмов в грунтах, что свидетельствует об определяющей роли паводковых выносов рек в распределении донных микроорганизмов.

В 1952 г. на станциях, почти совпадающих с местами отбора проб в 1951 г., биомасса микроорганизмов была значительно меньше, чем в предыдущем году. Эти, на первый взгляд противоречивые результаты лишь подтверждают уже высказанную мысль, что сток паводковых вод имеет определяющее значение для общего числа бактериальных клеток верхнего слоя грунта района авандельты Волги. Дело в том, что паводок в 1952 г. запоздал против обычных сроков и в период микробиологических

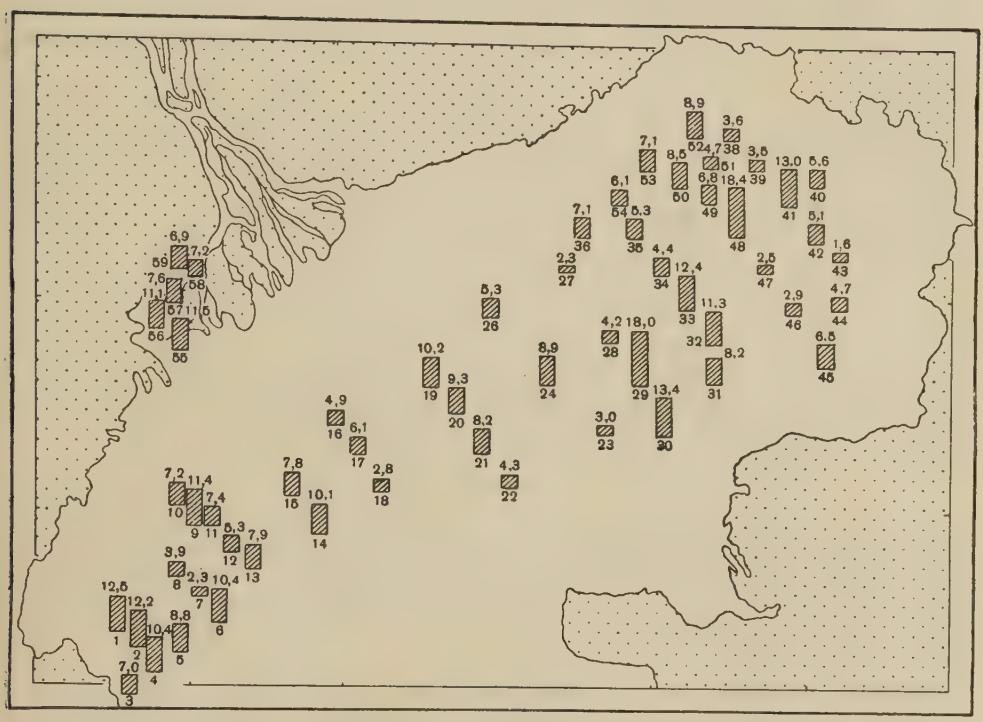


Рис. 2. Карта биомасс микроорганизмов в верхнем слое грунта (июль 1952 г.)

Условные обозначения см. рис. 1.

исследований еще не кончился. Понятно поэтому, что в районах, богатых бактериальной жизнью в 1951 г., в следующий год в это же время найдено было сравнительно мало микроорганизмов.

В 1952 г. на пяти станциях, расположенных в дельте Волги (рис. 2), наблюдалось возрастание числа бактерий вниз по течению реки. Это явление объясняется наличием в рукавах дельты зарослей макрофитов. Ниже по течению скорость потока уменьшается, что способствует более пышному разрастанию высшей водной растительности, а следовательно, и повышению биомассы микроорганизмов, живущих за счет растительных остатков.

Таким образом, в 1952 г. не удалось обнаружить влияние паводковых выносов Волги на число бактериальных клеток в верхнем слое грунта районов авандельты, тем самым не удалось проследить действия временного или сезонного фактора. Но именно это обстоятельство помогло установить зависимость числа бактериальных клеток от более постоянно существующей причины, каковой является механический состав донных осадков и связанное с ним содержание органического вещества в грунте. Рядом исследователей (Ястребова [10], Горшкова [2,3] и др.) было показано, что чем больше в грунте частиц мелкой фракции, тем выше содержание органического вещества. На основании данных 1952 г. была со-

ставлена таблица зависимости величины биомассы микроорганизмов от механического состава грунтов (рис. 3). На таблице четко видно, что в илистых грунтах, где содержание органического вещества выше, чем в песчанистых, найдено больше бактерий, чем в последних. Высокие значения величины биомассы бактерий в районе Уральской бороздины в 1952 г. и могут быть объяснены наличием большого количества органического вещества в илах, преобладающих здесь.

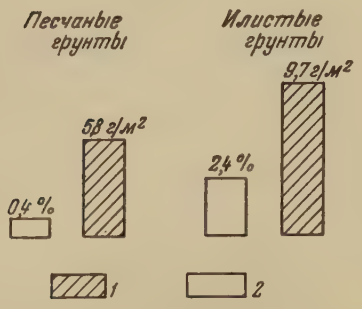


Рис. 3. Зависимость величины биомассы бактерий от наличия органического вещества в грунтах.

1 — биомасса бактерий в 1 г/м²; *2* — органическое вещество в процентах от сухого веса грунта

Нами было также проверено, какое влияние на число бактерий в грунте оказывают глубина, температура и соленость морской воды. Оказалось, что в пределах колебаний, наблюдавшихся нами в июле, ни один из перечисленных выше факторов не влиял заметным образом на биомассу микроорганизмов поверхностных слоев донных осадков.

Таким образом, нами было установлено, что решающим условием в распределении микроорганизмов на поверхности грунтов Северного Каспия является наличие органического вещества, связанное или с механическим составом грунта, или с выносами паводковых речных вод.

Выводы

1. Изучение количества микроорганизмов является первым этапом выяснения различных бактериальных процессов, происходящих в водоеме.

2. Число бактериальных клеток в верхнем односантиметровом слое грунта Северного Каспия колеблется от 57 млн. до 12 млрд. в 1 г натурального грунта. Биомасса изменяется от 2 до 50 г/м² в слое толщиной 1 см.

3. Распределение бактериального населения в верхнем слое донных осадков зависит от наличия органического вещества, связанного в Северном Каспии как с поступлением паводковых вод, так и с механическим составом грунта.

Всесоюзный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии
Москва

Получено 17.XI.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. О бактериальном населении Каспийского и Азовского морей. Микробиология, VII, вып. 9-10, 1938.
2. Горшкова Т. И. Исследование детрита в воде и в грунте северной части Каспийского моря. Кн. «Памяти А. Д. Архангельского». 1951.
3. Горшкова Т. И. Исследование органического вещества осадков ильменей р. Волги и северной части Каспийского моря. Доклады ВНИРО, вып. 1, 1952.
4. Иванов К. И. Основные черты гидрохимического режима предустьевого пространства р. Волги и северной части Каспийского моря. Тр. ГОИН, вып. 4 (16), 1948.
5. Исаченко Б. Л. Микробиологический анализ грунтов Азовского и Черного морей. Зап. Гос. гидрол. ин-та, вып. 10, 1933.
6. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. Микроорганизмы в донных отложениях океанических областей. Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 1952.
7. Крисс А. Е., Рукина Е. А. и Тихоненко А. С. Биомасса микроорганизмов на дне в сероводородной зоне Черного моря. ДАН СССР, н. сер., XXV, № 3, 1950.
8. Осницкая Л. К. Распределение гнилостных, тионовокислых, метанокисляющих и водородокисляющих бактерий в грунтах Северного Каспия. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.
9. Федосов М. В. Детали гидрохимии Северного Каспия и дельты Волги. Доклады ВНИРО, вып. 1, 1952.
10. Ястребова Л. А. Хлорофилл в морских осадках. Тр ВНИРО, V, 1938.

ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ ИЗ ГРУНТОВ СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ТИХОГО ОКЕАНА

Н. А. Мефедова

В результате работы в комплексной экспедиции 1953 г. Академии наук СССР на судне «Витязь» в северо-западной части Тихого океана нами была собрана коллекция бактерий из грунтов глубоководных районов, состоящая из 25 штаммов. Стремясь не включать в коллекцию одни и те же виды, мы отбирали на очередной станции штаммы, не повторяющие по морфологическим признакам ранее выделенные.

До настоящего времени большое внимание уделялось распределению бактерий в море, факторам, влияющим на распределение и активность морских бактерий, и очень мало — физиологической характеристике самих организмов. Под действием бактерий в море происходит минерализация органического вещества, разнообразные превращения азота, фосфора, осаждение и растворение солей кальция, серы, железа [1, 2, 4, 5, 6]. Еще мало изучена, но, несомненно, важна роль бактерий в питании морских животных, фильтрующих воду (губки, кораллы, балянусы и др.) и поглощающих ил (черви, иглокожие [7, 8]).

Мы в своей работе стремились выяснить разнообразие ферментативного аппарата морских бактерий. Незначительные колебания в химическом составе морских проб, как показал Исаченко [3], безусловно откладывают отпечаток на всю биохимическую деятельность бактерий моря.

Предварительное распределение коллекции по условным видам мы могли сделать только по таким признакам, как пигментообразование, строение колоний, форма клеток, подвижность и т. д.

Изучив биохимию и морфологию нашей коллекции бактерий, мы могли идентифицировать только девять штаммов, пользуясь несколькими определителями. 16 видов остались неопределенными. Идентификацию большинства чистых культур мы проводили по программе Цобелла и Упгейм (Zobell, Upham [10]), описавших 60 новых видов из западной части Тихого океана. Район наших исследований довольно близок к месту работы названных авторов. Кроме их определителя, мы привлекли для характеристики нашей коллекции некоторые данные Б. Л. Исаченко, описавшего морских бактерий Северного Ледовитого океана [3]. Несколько видов бактерий были идентифицированы по определителю Берджи (Bergey [9]).

Методика

Грунты из разных глубин Тихого океана добывались дночерпателем Океан-50. С монолита снимался самый поверхностный слой стерильным шпателем.

Вся работа по изоляции чистых культур производилась на рыбо-пептонном агаре, приготовленном на морской воде. Для определения подвижности, размера, строения и окраски клеток по Граму применялись 20—25-часовые культуры. На третьи сутки описывалась форма, размер и другие особенности колоний, рост на скошенном агаре, пигментация, спорообразование.

Нам казалось, что для изучения биохимических свойств морских бактерий целесообразно выбрать те среды, которые могут характеризовать

Таблица 1

Морфологические свойства идентифицированных культур

Вид	Форма, поверхность и окраска колоний	Форма и строение клеток	Размер клеток в μ	Подвижность	Спорообразование	Окраска по Граму
Flavobacterium uliginosum	Круглая, поверхность гладкая с двумя кругами, блестящая, желтая	Палочки, расположенные в длинных цепочках	1,0–2,3×0,6–0,7	+	—	—
Bact. amforeti	Круглая, поверхность гладкая, слизистая, белая	Палочки, расположенные в цепочках по две, пять и десять . . .	2,0–3,3×0,6–0,7	+	—	—
Bact. septentrionale	Круглая, поверхность гладкая, слизистая, бурая	Палочки, одиночные и расположенные по две	1,2–2,3×0,8	+	—	—
Bact. rubidum	Круглая, на поверхности слабо выраженные круги, слизистая, красная	Палочки, расположенные по две .	1,2–2,0×0,6–0,8	+	—	—
Bac. submarinus	Круглая, края сильно изрезанные, поверхность морщинистая, кремовая	Палочки, одиночные расположенные по две	1,2–2,3×0,6–0,7	+	+	+
Bac. abysseus	Микоидообразная, плоская, желтая	Длинные палочки, расположенные в коротких цепочках	2,3–2,5×0,8–1,0	+	+	+
Bac. borborokoites	Ползучая, поверхность морщинистая, серая	Палочки, расположенные по два .	1,2–2,0×0,6–0,8	+	+	+
Micrococcus euryhalis	Круглая, поверхность гладкая, блестящая, белая	Кокки, расположенные по два . .	0,6	—	—	+
Micrococcus marinus	Круглая, на поверхности ровные круги, блестящая, белая	Кокки, расположенные гроздями .	0,7	+	—	+

Таблица 2

Морфологические свойства неидентифицированных культур

Номер штамма	Форма, поверхность и окраска колоний	Форма и строение клеток	Размер клеток в μ	Подвижность	Спорообразование	Окраска по Граму
29	Выпуклая, неправильной формы, поверхность блестящая, слизистая, серая	Палочки, расположенные в длинных цепочках, образующие параллельные пучки	2,0—3,3×0,5—0,7	+	—	—
3	Круглая, плоская, поверхность морщинистая с рисунком в виде двух кругов, белая	Палочки одиночные	1,0—2,3×0,5—0,7	+	+	+
6	Большая с сильно изрезанными краями, поверхность гладкая, кремовая	Палочки, расположенные по две	0,8—2,0×0,4—0,5	+	+	+
9	Выпуклая, края сильно изрезанные, поверхность морщинистая, розовая	Палочки, расположенные по две	1,2—1,8×0,4—0,5	+	+	+
10	Плоская, круглая, поверхность гладкая, блестящая, темнокоричневая	Палочки, расположенные по две	2,0—2,5×0,6—0,8	+	+	+
12	Выпуклая, неправильной формы, коричневая	Палочки с зернистой протоплазмой, расположенные в коротких цепочках по две, три и четыре	1,8—2,3×0,9—1,2	+	+	+
13	Выпуклая, неправильной формы, поверхность морщинистая, серая	Палочки с зернистой протоплазмой, расположенные в длинных цепочках, отдельные клетки утолщенные и большего размера	1,2—2,0×0,6—0,8	—	+	+
14	Плоская, края волнистые, поверхность сильно морщинистая, кремовая	Длинные клетки, расположенные в коротких цепочках	2,0—3,5×0,7—0,8	+	+	+
17	Круглая, поверхность гладкая, блестящая, темнокоричневая	Палочки с зернистой протоплазмой, расположенные в коротких цепочках	2,3—2,5×1,0—1,2	—	+	+
23	Круглая, слизистая, прозрачная	Палочки со слабозернистой протоплазмой, расположенные в цепочках по четыре, пять и шесть	1,2—2,6×0,5—0,7	+	—	—
24	Круглая, на поверхности ровные круги, коричневая, пигмент диффундирует в агар	Палочки, расположенные в цепочках. вскоре распадающихся по две клетки	2,3—3,0×0,8—0,9	+	+	+
25	Неправильной формы, поверхность морщинистая, кремовая	Палочки одиночные и расположенные в цепочках по две-три клетки	2,3—4,0×1,0—1,4	+	+	+
28	Неправильной формы, матовая, серовато-серебристая	Палочки толстые с зернистой протоплазмой, расположенные в цепочках	2,3—4,0×1,0—1,4	+	+	+
30	Фестончатая, плоская, с сильно изрезанными краями, кремовая	Мелкие палочки, одиночные и расположенные по две	1,8—2,3×0,5—0,8	+	+	+
31	Выпуклая, поверхность сильно морщинистая, черная	Палочки одиночные и расположенные по две	1,5—2,0×0,6—0,8	+	+	+
33	Плоская, звездчатая, от центра отходят нити с расширением на конце, кремовая	Палочки, расположенные по две	2,0—3,0×0,8—0,9	+	+	+

основную деятельность бактерий, направленную на минерализацию растительных и животных остатков. Эту ферментативную характеристику мы дополнили изучением геохимических способностей морских бактерий.

Были взяты почти все среды, применявшиеся Цобеллом при изучении тихоокеанских штаммов: мясо-пептонный бульон на морской и водопроводной воде, молоко с лакмусом, крахмал, ломтики картофеля, среда для денитрификации, среды с глюкозой, мальтозой, сахарозой, лактозой, маннитом, кальциевая и железистая среды. Все растворы, исключая мясо-пептонный бульон на водопроводной воде, молоко с лакмусом, ломтики картофеля, были приготовлены на морской воде. Длительность инкубации была от нескольких дней до двух-трех недель, в зависимости от состава среды и течения процесса.

Морфологическая характеристика изученных морских бактерий

Пигментоообразование может быть одним из выразительных диагностических признаков при дифференциации штаммов.

В выделенной нами коллекции мы отмечаем большое разнообразие пигментообразования. Из 25 культур бактерий 20 образовывали пигмент: пять культур вырабатывали коричневый пигмент, две давали колонии желтого цвета, у шести культур колонии были кремового цвета, одна давала колонии розового цвета, одна — красного и пять — серого цвета. Наиболее яркое пигментообразование наблюдается на ломтиках картофеля. Многие бактерии при длительном культивировании в лабораторных условиях теряют способность вырабатывать пигмент на рыбо-пептонном агаре. Так, пять свежевыделенных культур с коричневой пигментацией через два месяца потеряли эту способность, давая колонии серого цвета.

Большинство культур морских бактерий, изолированных из грунтов глубоководных районов, относятся к спороносным формам.

Из 25 культур бактерий 19 дают положительную окраску по Граму, шесть — отрицательную.

Большинство бактерий представляют собой небольшие палочки (1,2—3,0 μ длиной), расположенные одиночно, иногда попарно или в виде небольших цепочек; только четыре культуры образовывали на рыбо-пептонном агаре длинные цепочки. Среди изученных культур были лишь две кокковые формы.

Из 25 наших штаммов 22 культуры были подвижные и только три неподвижные. Последние представлены культурами, образующими длинные цепочки на рыбо-пептонном агаре.

По форме колонии на агаровых пластинках культуры отличались большим разнообразием. 11 видов давали на агаре складчатые колонии неправильной формы, с сильно изрезанными краями. Колонии ризоидного типа, способные разрастаться по поверхности агара, имелись у шести видов. Способность морских бактерий к ползучему росту, вероятно, помогает им обволакивать трупы морских организмов и противостоять движению воды. Большинство изученных культур образовывали слизь.

Биохимические свойства выделенных культур

Все культуры обильно росли на мясо-пептонном бульоне, приготовленном как на водопроводной, так и на морской воде.

Ферментативный аппарат бактерий моря должен в какой-то мере соответствовать их деятельности как некрофагов. Отсюда протеолитические свойства являются наиболее типичными для морских бактерий. Посевы на МПЖ показали, что из 25 культур 22 обладали способностью разжижать желатину. Интересно, что все 60 тихоокеанских культур микробов, выделенных Цобеллом, были также способны к протеолизу.

Для выявления амилолитической способности производился посев уколом в крахмальную среду. Крахмал разлагали 16 штаммов, что составляет 64% всех культур. Все культуры давали пышный рост на ломтиках картофеля. Многие из них вызывали ослизнение, покраснение или потемнение картофеля. Больше половины наших штаммов свертывали молоко, образуя сгустки казеина на дне пробирки, что показывает широту их ферментативного аппарата. Только две культуры бактерий не подкисляли и не подщелачивали молоко.

Посевы на среде с разными углеводами показали образование кислот на глюкозе у 100%, на мальтозе у 80%, на сахарозе у 84% и на лактозе у 36% штаммов. 22 культуры обладают способностью восстанавливать нитраты до нитритов.

Из геохимических свойств морских бактерий наиболее интересным нам кажется способность их осаждать кальциты из раствора. Из наших культур 24 вызывали выпадение кальцитов. Что касается железа, то 21 культура переводила органическое железо из раствора в аморфный осадок.

Вся биохимическая характеристика изученных культур морских бактерий говорит о богатстве их ферментативных способностей. Из 25 штаммов мы могли определить девять, принадлежащих к следующим видам: Bac. submarinus Zobell, Upham; Bac. abysseus Z., Up.; Bac. borborokoites Z., Up.; Flavobacterium uliginosum Z., Up.; Bact amforeti

Таблица 3

Биохимические свойства идентифицированных культур

Вид	Рост на МПБ на морск. воде	Рост на МПБ на водопров. воде	Разжижение желатины	Разжижение крахмала	Рост на картофеле	Коагуляция молока	Подщелач. молока с лакмусом	Кислотообразование на углеводах и маните: глюкоза	мальтоза	сахароза	лактоза	маннит	Денитрификация NO_3	Осаждение Ca	Осаждение Fe
Flavobacterium uliginosum	+ +	+	+	+ +	Желт.	-	+	+ + +	+ + +	+ + +	-	-	+ +	+	+
Bact. amforeti	+ +	+ +	+ +	+ +	Желт.	-	+	+ + +	+ + +	+ + +	-	-	+ +	+ +	-
Bact. septentrionale	+	+	-	+	+ +	-	-	+ +	+	-	+	-	+	+ +	-
Bact. rubidum	+	+	+ +	-	+ +	+ +	+	+ +	+	+	-	-	+	+	+
Bac. submarinus	+	+	+ +	+ +	+ +	+	+	+ +	+	+	-	+	+	+ +	+
Bac. abysseus	+ +	+ +	+ +	+ +	+	-	-	+ +	-	+ +	-	-	+ +	+ +	+
Bac. borborokoites	+ +	+ +	+ +	+ +	Ослизн.	+	+	+ + +	+	+ +	+	+	+ +	+ + +	+
Micrococcus euryhalis	+ +	+ +	-	-	+ + +	+	+	+ + +	+ +	-	+	+	+	+ + +	+
Micrococcus marinus	+ +	+ +	-	-	+ + +	-	-	+ + +	+	+	-	-	+	+ + +	-

Таблица 4

Биохимические свойства неидентифицированных культур

№ штаммов	Рост на МПБ на морск. воде	Рост на МПБ на водопр. воде	Разжижение желатины	Разжижение крахмала	Рост на картофеле	Коагуляция молока	Подкисление молока с лакмусом	Кислотообразование на углеводах и манните					Динитрификация NO_3	Осаждение Ca	Осаждение Fe
								глюкоза	мальтоза	сахароза	лактоза	маннит			
29	+++	+	++	++	Ослизн. +	+	—	+	—	—	—	—	—	+++	+
3	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	—	++	++	+++	+++
6	+++	+++	++	—	+	+++	+++	+++	—	+++	+++	+++	—	+++	++
9	+++	+++	+++	++	Красн. +	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	—
10	++	++	++	++	Ослизн. +	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	—
12	++	++	++	++	Ослизн. +	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	+
13	++	++	++	+	Ослизн. +	+++	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+
14	+++	+++	+++	++	Потемн. +	++	+++	+++	++	+++	—	+++	++	+++	+++
17	++	++	++	++	Желт. +	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
23	+	+	++	++	Ослизн. +	—	—	++	++	+	—	—	+++	++	++
24	++	++	++	++	Желт. +	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	—	+++	+
25	+++	+++	+++	+++	+	—	—	+++	+++	+++	—	+++	++	+++	—
28	++	++	+++	+++	+	+	++	+++	+++	++	—	—	++	+++	+
30	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	++	++	++
31	+++	+++	++	++	Потемн. +	+++	+++	+++	++	++	—	+++	++	+++	++
33	+++	++	++	++	Розовый +	—	—	+++	—	—	—	+++	++	+++	++

Yssatch; Bact. rubidium (Eisenberg) Chester; Micrococcus euryhalis Z., Up.; Micrococcus marinus Yssatch; Bact. septentrionale Yssatch. Остальные наши штаммы несколько приближались к описанным видам, но окончательно не определены.

Выражаю искреннюю благодарность проф. В. О. Калиненко за советы, указания и руководство данной работой.

Выводы

Бактерии, выделенные из грунтов северо-западной части Тихого океана, оказались различными по своим морфологическим признакам и однотипными по своим основным биохимическим свойствам. Изученные морские бактерии обладали многочисленными ферментами, что позволяет им в условиях моря участвовать в самых разнообразных превращениях органических и минеральных веществ.

Институт океанологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 15.XII.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. Образование морских железо-марганцевых отложений и участвующие в нем микроорганизмы. Тр. Морского научн. ин-та, III, вып. 3, 1928.
2. Исаченко Б. Л. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Тр. Аркт. ин-та, 82, 1937.
3. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Избр. труды, I, 111, 1951.
4. Калиненко В. О. Роль бактерий в формировании железо-марганцевых конкреций. Микробиология, XV, вып. 5, 1946.
5. Калиненко В. О. Происхождение железо-марганцевых конкреций. Микробиология, XVIII, вып. 6, 1949.
6. Калиненко В. О. Бактериогенное осаждение кальция в море. Тр. Ин-та океанологии АН СССР, 3, 1949.
7. Калиненко В. О. Бактерии и морские беспозвоночные животные. Микробиология, XX, вып. 4, 1951.
8. Калиненко В. О. Бактерии и беспозвоночные животные морского дна. Микробиология, XXI, вып. 5, 1952.
9. Bergey D. H. Manual of determinative bacteriology. 7 ed., 1948.
10. ZoBell C. E. a. Upham H. C. A list of marine bacteria including descriptions of sixty new species. Bull. of the scripps institution of oceanography of the University of California. La Yolla, California, 5, 239, 1944.

ГЛУБИННЫЙ СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ПОМОЩИ ГРИБА ASPERGILLUS NIGER

Г. И. Журавский

Лимонная кислота благодаря своим вкусовым качествам и физико-химическим свойствам имеет широкое применение в народном хозяйстве страны и особенно в пищевой промышленности.

В природе мы находим ее в плодах и листьях различных растений (в лимонах, апельсинах, в клюкве, черной смородине, в листьях махорки, фасоли и других объектах).

Издавна лимонную кислоту получали преимущественно из лимонов, в соке которых ее содержится от 2 до 6% [1]. Однако все возрастающая потребность в лимонной кислоте и ограниченность ее получения из объектов растительного мира уже в конце прошлого столетия привели к необходимости отыскания иных источников получения лимонной кислоты.

Развитие технической микробиологии открыло неограниченные возможности для использования биохимических свойств микроорганизмов в производственных процессах. В том числе была использована способность некоторых плесневых грибов, относящихся к роду Aspergillus, синтезировать лимонную кислоту на сахарсодержащих субстратах. В Советском Союзе микробиологическое производство лимонной кислоты получило свое осуществление в начале тридцатых годов благодаря работам В. С. Буткевича, С. П. Костычева и их учеников.

Для производства лимонной кислоты обычно отбираются наиболее активные к кислотообразованию разновидности гриба Aspergillus niger. Специально составленная сахарсодержащая питательная среда засеивается конидиями гриба-кислотообразователя и разливается слоем в 2—8 см в плоские большие кюветы, расположенные ярусами в закрытом помещении — бродильной камере. Выросший на поверхности раствора сплошным покровом мицелий гриба синтезирует лимонную кислоту за счет поглощаемого из раствора углевода, а накопившаяся в клетках мицелия кислота выделяется в сбраживаемый раствор.

Процесс кислотообразования при помощи такой поверхностно плавающей на растворе пленки может протекать весьма интенсивно. Пленка мицелия площадью в 1 м^2 выделяет в производственных условиях свыше 500, а в некоторых случаях и 800 г лимонной кислоты в сутки. Кислые сброженные растворы сливаются и подвергаются сравнительно простой химической переработке с целью выделения из них кристаллической лимонной кислоты [5].

При осуществлении производства лимонной кислоты микробиологическим способом физиологический процесс накопления живыми клетками органических кислот оказался более производительным, а экономически более выгодным, чем процесс производства кислоты из лимонов. С одной стороны, максимально используется такая богатая углеводами культура, как сахарная свекла, с другой стороны — применяется высокая физиологическая способность клеток плесневого гриба для превращения этих углеводов в лимонную кислоту.

Несмотря на достигнутые успехи, производство лимонной кислоты при помощи поверхностно плавающей пленки гриба-кислотообразователя

несет в себе ряд серьезных недостатков. Поверхностный способ требует больших производственных площадей, огромного количества плоских кювет, на которых осуществляется процесс кислотообразования. Специфичность технологического оборудования бродильного цеха затрудняет механизацию трудоемких работ и автоматизацию технологического процесса. Этот способ практически не гарантирует осуществление процесса в стерильных условиях и потому, несмотря на прилагаемые усилия работников производства, периодически страдает от посторонней микрофлоры, порой резко снижающей синтетическую деятельность гриба. Эти недостатки и ряд других, естественно, тормозят дальнейшее развитие производства лимонной кислоты поверхностным способом.

Уже давно мысль исследователей была направлена на разработку более перспективного — глубинного способа производства лимонной кислоты [7].

В отличие от естественного поверхностного способа культивирования гриба, при глубинном способе мицелий разрастается не на поверхности питательного раствора, а во всей его массе. При поверхностном способе тело гриба находится в неодинаковых условиях питания и аэрации, и поэтому не все его клетки одинаково полноценно могут синтезировать лимонную кислоту. В глубинных же условиях погруженный мицелий, будучи со всех сторон окружен аэрируемой жидкой питательной средой, может всеми своими клетками одинаково активно синтезировать кислоту.

Таким образом, уже в принципе глубинный способ открывает широкие возможности для значительного увеличения мощности производства за счет более полного использования кислотообразующей способности погруженного мицелия, а также за счет единовременного вовлечения в производство больших объемов сбраживаемых растворов, которое должно иметь место при замене многих плоских кювет большими емкостями — ферментаторами.

Однако осуществление производства лимонной кислоты глубинным способом представляет собой сложную как в биологическом, так и в техническом отношениях проблему. Трудность ее разрешения заключается не только в том, чтобы приспособить аэробный организм гриба к существованию в необычных для него погруженных условиях, но и в том, чтобы направить его жизнедеятельность в сторону максимального продуцирования преимущественно лимонной кислоты. В этих условиях культивирования формируется мицелий особой структуры, причем изменения условий аэрации и питания, а также вмешательство новых, часто неустойчивых и потому трудно уловимых, но существенно влияющих на процесс факторов, крайне затрудняют решение данной проблемы. Не случайно поэтому известные уже давно попытки осуществить производство лимонной кислоты глубинным способом долгое время не имели успеха [9].

В настоящее время проблема получения лимонной кислоты глубинным способом нашла свое положительное решение в работах, проведенных лабораторией Всесоюзного научно-исследовательского института кондитерской промышленности в содружестве с Ленинградским заводом лимонной кислоты под руководством автора этой статьи.

Руководствуясь основными положениями советской биологической науки, коллектив начал исследование проблемы с отыскания и изучения физиологических закономерностей жизнедеятельности гриба-кислотообразователя в единстве с меняющимися условиями окружающей среды.

Новые специфические условия глубинного способа ведения процесса требовали:

1) разработки новой методики исследований и создания специальной аппаратуры, отвечающей физиологическим требованиям погруженной культуры гриба-кислотообразователя;

2) подбора штаммов гриба, наиболее активно образующих лимонную кислоту в условиях глубинного культивирования;

3) разработки условий питания, аэрации, температурного режима и других условий, позволяющих не только вскрыть, но и усилить способность отобранных штаммов к активному синтезу лимонной кислоты при погруженном культивировании их.

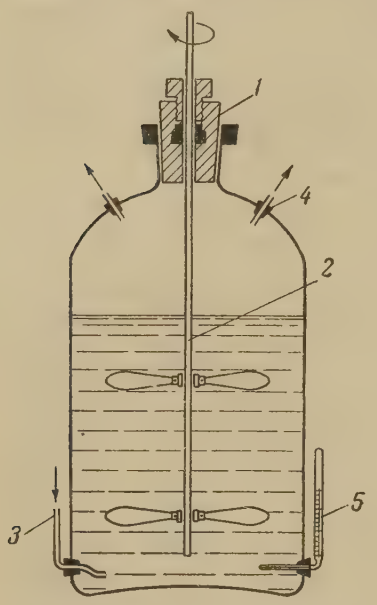


Рис. 1. Прибор для культивирования погруженного мицелия гриба Asp. niger

1 — пробка с сальниковым уплотнением и резиновой прокладкой; *2* — механическая мешалка; *3* — поступление стерильного воздуха; *4*—выход воздуха; *5*—термометр

Для постановки опытов на первом этапе исследований с большим успехом были использованы применяемые в лабораторной технике качалки вращательного и качалки возвратно-поступательного типа. В дальнейшем исследования проводились в более совершенных, с точки зрения аэрации погруженной культуры, приборах с механическими мешалками, смонтированными из 20-литровых стеклянных бутылей [рис. 1].

Аэрация погруженной культуры достигалась путем продувания стерильного, диспергированного воздуха через сбраживаемый раствор с погруженной в него культурой гриба при одновременном перемешивании всей массы при помощи механических мешалок или путем встряхивания опытных сосудов.

Одним из решающих условий успешного осуществления глубинного способа производства лимонной кислоты является подбор биохимически активного в этих условиях штамма гриба-кислотообразователя, высокая активность которого к синтезу лимонной кислоты может быть вскрыта путем создания потребных для этого организма условий среды: питания, аэрации и пр.

В результате сравнительного испытания активных штаммов и выявления потребных им условий культивирования был отобран ряд штаммов, пригодных для ведения процесса в глубинных условиях: Aspergillus Wentii, штамм Г; Aspergillus niger, штамм № 82(Д) и № 90. Штамм № 82 (Д), показавший наиболее высокую активность кислотообразования в глубинных условиях, был принят для лабораторных исследований, а затем передан на производство. Небезинтересно отметить, что этот штамм при поверхностном способе культивирования по активности кислотообразования уступает лучшему производственному штамму № 6/5 Ленинградского завода лимонной кислоты. В глубинных же условиях, как то видно из табл. 1, штамм № 82 (Д) оказался значительно более активным, чем штамм № 6/5.

Из этого примера наглядно видно, как два близких организма, принадлежащих к одному виду, в силу специфических природных особенностей требуют различных условий для реализации своей способности к синтезу лимонной кислоты.

Постоянные морфологические и биохимические наблюдения за состоянием производственного штамма № 82 (Д) показали, что этот штамм, как и многие другие штаммы рода Aspergillus, обладает повышенной склонностью к образованию новых форм. При посеве на агаризованные среды наблюдается появление среди однородных темных колоний исходного штамма морфологически отличающихся колоний возникших новых вариантов (рис. 2). Новые формы, выделенные в чистую культуру, пред-

ставлены на рис. 3. Форма № 2 резко отличается от исходного штамма по морфологии колонии, форма же № 9 также и слабой способностью к синтезу лимонной кислоты.

За сравнительно короткий период времени из основного штамма 82 (Д) было выделено свыше 30 вариантов, в большинстве своем обладающих пониженной активностью кислотообразования.

Таблица 1

Сравнительное испытание кислотообразующей активности штаммов гриба Aspergillus niger

(продолжительность опыта 10 суток)

Штаммы гриба	Поверхностный способ		Глубинный способ	
	получено лимонной кислоты на сосуд в г	отношение в %	получено лимонной кислоты на сосуд в г	отношение в %
№ 6/5	87,1	100,0	49,5	100,0
№ 82 (Д)	51,3	58,9	90,2	182,2

Это обстоятельство привело к необходимости разработки новой технологии приготовления посевного материала, в основу которой положено своевременное возобновление стареющих пересевов и очистка штаммов от вновь образующихся неактивных форм, а также ограничение количества последовательных пассажей выделенной культуры при производственном размножении конидий.

Для получения посевного материала (конидий гриба) спороносные пленки гриба выращиваются поверхностным способом на специально разработанных нами питательных средах [3, 6].

Установлено, что оптимальная густота посева при глубинном способе ведения процесса составляет 600—700 тыс. конидий в 1 мл сбраживаемой среды.

Дальнейшие исследования показали, что засев среды конидиями, предварительно подрощенными в течение 12—24 часов, ускоряет производственный процесс продуцирования лимонной кислоты в глубинных условиях примерно на 10% и уменьшает расход посевного материала по крайней мере вдвое.

Специфическое культивирование кислотообразующего погруженного мицелия вызвало необходимость изучения природных требований гриба к условиям питания.

В результате многочисленных исследований нашей лаборатории еще в 1948 г. была разработана специальная питательная среда BB_2, содержащая в 1 л: мочевины — 1,0 г; NH_4Cl—0,8 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$—0,5 г; KH_2PO_4 — 0,16 г; KCl — 0,07 г; $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,02 г; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,01 г и сахара свекловичного 150,0 г. Эта среда не только обеспечила рост и формирование наиболее активного к кислотообразованию в погруженных условиях мицелия, но и позволила направить процесс в сторону синтеза, главным образом лимонной кислоты [2].

Тем самым, вопреки существовавшим противоречивым мнениям, была показана безусловная возможность получения лимонной кислоты глубинным методом брожения.

В лабораторных условиях в сосудах, снабженных механической мешалкой и содержащих по 10 л среды BB_2, за десятисуточный цикл бессменного культивирования было получено 75—90 г лимонной кислоты с каждого литра исходного питательного раствора. Полупроизводственные испытания подтвердили эти результаты. При сбраживании в фермен-

таторе 250 л среды за десятисуточный процесс было синтезировано в пересчете на 1 м³ исходного раствора 80—85 кг лимонной кислоты.

При формировании высокоактивного к синтезу лимонной кислоты мицелия особо важное значение имеют азот и фосфор питательной среды.

Как показали исследования, сочетание органического азота мочевины с минеральным создают благоприятные условия азотного питания погруженной культуры. Оптимальная же дозировка фосфора лежит при содержании 0,16 г, KH_2PO_4 в 1 л среды.

Дальнейшие наши исследования показали некоторое усиление кислотообразования в том случае, если минеральный азот дается в среду в виде NH_4NO_3 [4]. Таким образом, наряду со средой BB_2 появилась другая, близкая к ней среда BO_2.

Процессы дыхания и синтеза лимонной кислоты у гриба-кислотообразователя, конечно, всецело связаны с условиями аэрации. Само поступление элементов питания в клетки организма, являясь сложным физиологическим актом, находится в тесной взаимосвязи с окислительными, энергетическими превращениями, протекающими в клетках, и тем самым должно также определяться условиями аэрирования мицелия. Это обстоятельство приобретает особо важное значение при культивировании гриба в неестественных для него погруженных условиях.

Таблица 2

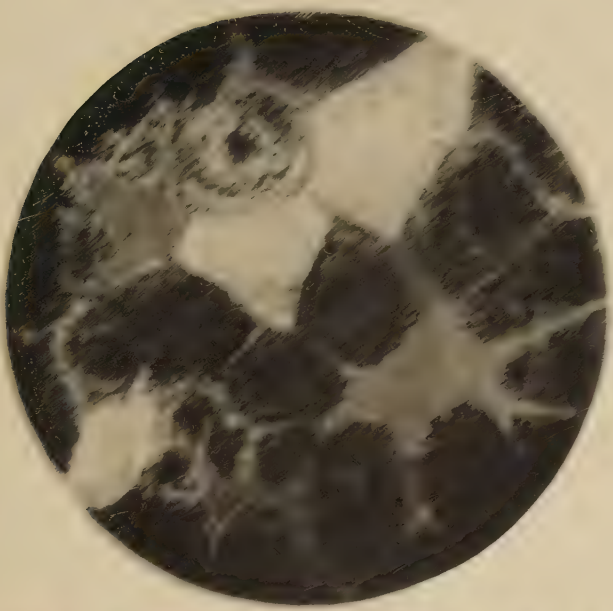
Кислотообразование погруженной культуры гриба Aspergillus niger, штамм № 82 Д, на разных питательных средах в условиях несовершенной аэрации (опыт на качалках)

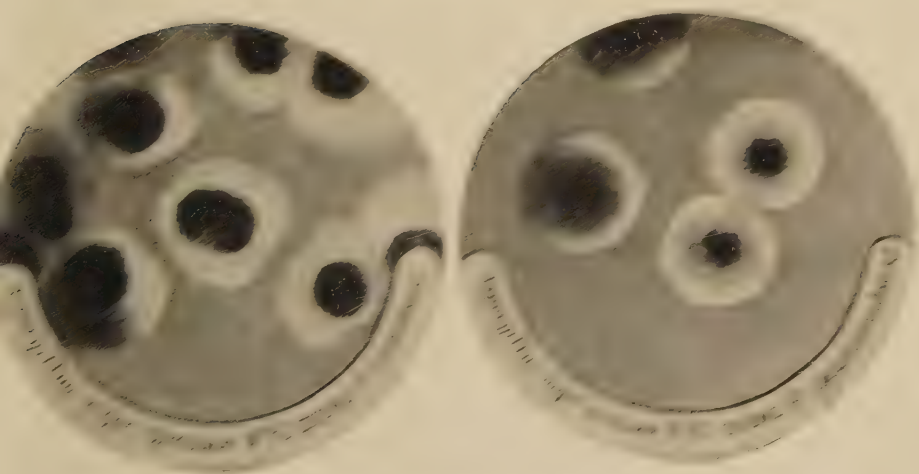
Показатели	Питательная среда		
	Ваксмана—Кэроу	BB_2	A_4
Выход лимонной кислоты в г/л	21,5	37,0	11,2
Отношение в %	58,2	100,0	30,3

Действительно, совершенствуя условия аэрации погруженной культуры, увеличивая количество пропускаемого через нее воздуха, сочетая продувание с энергичным перемешиванием и повышая тем самым количество растворенного в сбраживаемой массе кислорода, мы смогли обнаружить при этом резкие изменения отношения кислотообразующего организма к составу питательной среды. В этих условиях более совершенной аэрации нами была разработана и применена наряду со средами BB_2 и BO_2 еще более эффективная для синтеза лимонной кислоты и более простая по составу среда A_4.

Эта среда лишена мочевины и состоит только из трех солей: NH_4NO_3—2,5 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$—0,25 г и KH_2PO_4—0,16 г в 1л 15%-ного раствора сахара. В опытах на качалках в условиях относительно недостаточной аэрации среда A_4 обеспечивает очень слабое кислотообразование у гриба, как это видно из табл. 2, и в этом отношении значительно уступает не только среде BB_2, но и среде Ваксмана—Кэроу [8], рекомендованной авторами специально для глубинного брожения и содержащей в 1 л 15%-ного раствора сахара: мочевины —1,0 г; KH_2PO_4 — 0,08 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,5 г; KCl — 0,15 г; $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,02 г и $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,01 г.

В условиях же более совершенной аэрации, как можно видеть из табл. 3, наряду с усилением продуцирования лимонной кислоты грибом,





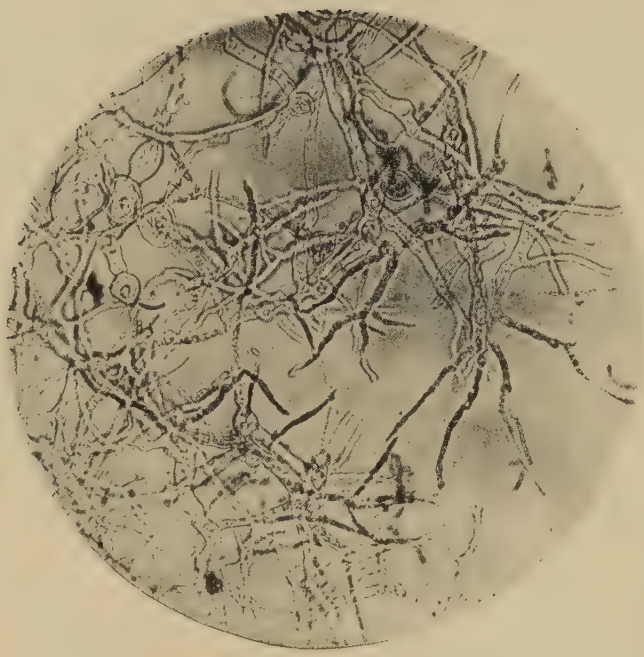


Рис. 5. Микроснимок мицелия восьмисуточного возраста, выращенного в условиях недостаточной аэрации погруженной культуры

Рис. 6. Микроснимок мицелия восьмисуточного возраста, выращенного в условиях непрерывного перемешивания погруженной культуры

Таблица 3

Кислотообразование погруженной культуры гриба Aspergillus niger, штамм № 82 (Д), на разных питательных средах в условиях более совершенной аэрации (из опыта в сосудах с мешалками)

Показатели	Питательная среда					
	BB_2	A_1	A_2	A_3	A_4	A_6
Содержание KH_2PO_4 в г/л	0,16	1,00	0,50	0,25	0,16	0,08
Выход лимонной кислоты в г/л	62,74	64,69	71,79	72,81	82,11	76,32
Отношение в %	100,00	103,11	114,43	116,06	130,88	121,65

Примечание. Наряду со средой BB_2 представлены варианты среды А (A_1, A_2, A_3, A_4, A_6), содержащей в 15%-ном растворе сахара: NH_4NO_3 — 2,5 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,25 г и KH_2PO_4 — переменное количество граммов.

выращенным на среде BB_2, мы наблюдаем более резкое усиление синтеза ее у гриба при культивировании его на среде A_4. Такого рода исследования весьма убедительно показали, что при недостаточной аэрации погруженной культуры для осуществления синтеза лимонной кислоты необходимо наличие в питательной среде азота мочевины. Но эта потребность у организма в органическом азоте исключается при переходе на более совершенную аэрацию погруженного мицелия.

Из последней таблицы мы видим, что и в условиях совершенной аэрации дозировка KH_2PO_4 в новой среде остается той же, что и в среде BB_2, а именно 0,16 г/л (среда A_4).

Среда A_4, как один из лучших вариантов, разработанных нашей лабораторией, после тщательной проверки передана в цех производства лимонной кислоты глубинным способом. На этой среде в ферментаторах за 7,7 суток было получено 90,69 кг лимонной кислоты в пересчете на каждый 1 м³ исходного раствора. В среднем за сутки процесса достигнут съем 11,8 кг кислоты с 1 м³ раствора. Выход лимонной кислоты от данного сахара — 58,4%. На рис. 4 показана кривая кислотообразования у штамма № 82 (Д) на среде A_4.

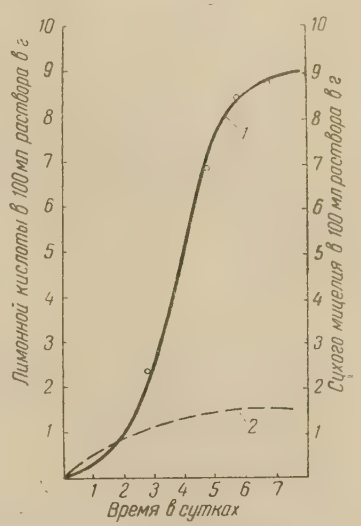


Рис. 4. Динамика синтеза лимонной кислоты у погруженного мицелия гриба Asp. niger (штамм № 82 на среде A_4)
1 — кривая синтеза лимонной кислоты; 2—кривая нарастания мицелия

Из сказанного видно, что условия аэрации имеют решающее значение для процессов роста и кислотообразования у погруженной культуры гриба. Следует учесть, что аэрирование погруженной культуры зависит от ряда взаимообуславливающих моментов: парциального давления подаваемого с воздухом кислорода, скорости продувания, степени распыления воздуха и интенсивности перемешивания погруженной культуры. Особое значение здесь имеет количество кислорода, растворенного в питательной среде. Недостаточная аэрация, возникающая при уменьшении подачи воздуха или ослаблении интенсивности перемешивания сбра-

живаемой массы вызывает замедленный, патологический рост погруженного мицелия с характерными вздутиями гиф (рис. 5 и 6) и резкое ослабление синтеза кислоты. Из табл. 4 видно, как повышение интенсивности перемешивания погруженной культуры путем увеличения числа оборотов мешалки усиливает кислотообразование, которое достигает максимальной величины при 350 оборотах в минуту.

Таблица 4

Кислотообразование у штамма №82 (Д) в зависимости от условий перемешивания погруженной культуры (опыт в сосудах с мешалками)

Число оборотов мешалки в минуту	Получено лимонной кислоты за 10 суток процесса	
	на сосуд в г	в % от контроля
180	128,89	28,30
250	419,55	91,21
350	465,44	100,00
450	319,51	70,15

Дальнейшее увеличение числа оборотов мешалки вызывает угнетение синтеза лимонной кислоты. Фактор перемешивания играет важную роль уже в процессе начального роста и формирования кислотообразующего мицелия и тем самым решает дальнейший успех выявления кислотообразующей способности, присущей штамму гриба. При интенсивном перемешивании из прорастающих спор формируется диффузный мицелий. При более слабом перемешивании образуются различных размеров (от долей миллиметра до нескольких миллиметров в диаметре) овальные колонии, часто весьма уплотненные. Обычно крупные шарообразные скопления мицелия с относительно небольшой поверхностью контакта со средой менее активны к синтезу кислоты.

Температура также является мощным фактором, влияющим на скорость роста формирующегося мицелия, его жизнедеятельность и кислотообразование. При пониженной температуре задерживается нарастание живой массы мицелия, вследствие чего процесс кислотонакопления в растворе замедляется. Исследования показали, что оптимальная температура для глубинного процесса получения лимонной кислоты равна 30—32°.

Дальнейшее повышение температуры усиливает нарастание мицелия, однако способность к синтезу лимонной кислоты у него становится ниже. В составе кислот сброженного раствора при этом увеличивается содержание посторонней глюконовой кислоты, повышается также расход сахара на усиливающийся процесс дыхания.

Необходимо учесть, что погруженная культура продуцирует значительное количество тепла. Кубометр сбраживаемого раствора с погруженной в нем культурой гриба за час выделяет до 2500 больших калорий тепла и поэтому во избежание перегрева нуждается в охлаждении.

При осуществлении глубинного способа брожения имеются все условия для исключения инфекции. Однако при нарушении принципа стерильности в сбраживаемой массе быстро размножается посторонняя бактериальная и дрожжевая микрофлора, и процесс образования лимонной кислоты почти всегда угнетается.

Исследования показали, что технология переработки растворов, сброженных глубинным способом в кристаллическую лимонную кислоту, не отличается от технологии переработки растворов, сброженных поверхностным способом [5].

На основании всесторонне проведенных научных исследований разработана новая технология производства лимонной кислоты глубинным способом и создано соответствующее ей технологическое оборудование. Новая технология была апробирована на полупроизводственной установке Ленинградского завода лимонной кислоты, где затем в 1953 г. был введен в строй цех глубинного брожения и глубинный способ получения лимонной кислоты был успешно внедрен в производство.

Приводим кратко технологическую схему производства лимонной кислоты глубинным способом (рис. 7).

Для приготовления питательного раствора в варочном котле (*1*) заготовляется сахарный сироп, который через фильтр (*2*) перекачивается

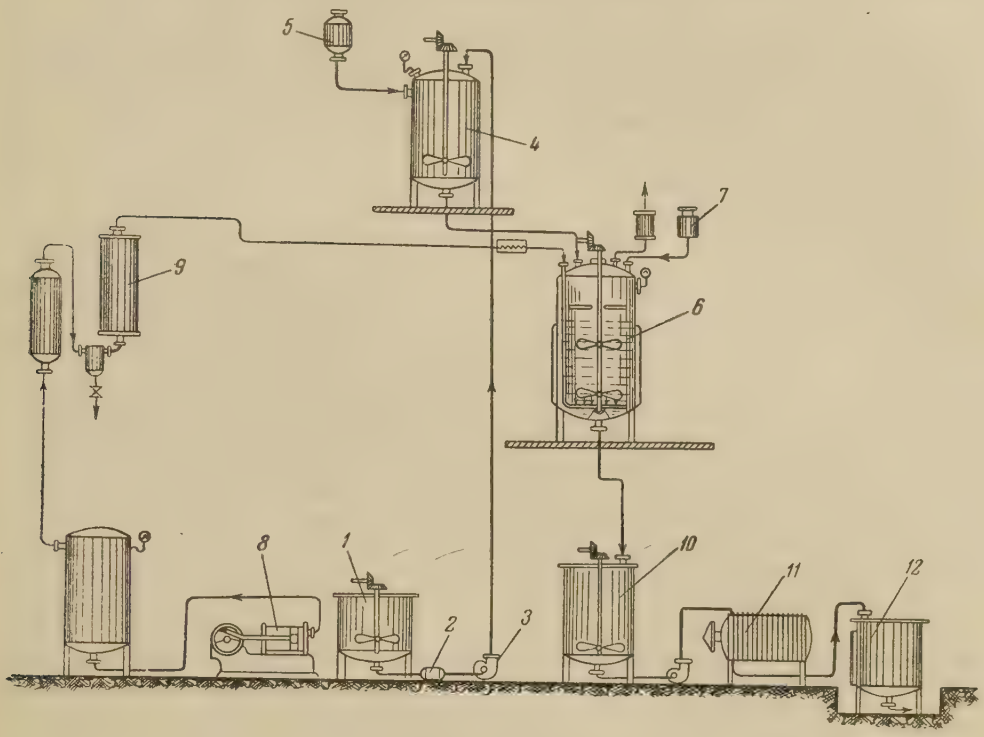


Рис. 7. Технологическая схема получения лимонной кислоты глубинным способом (объяснение в тексте)

центробежным насосом (*3*) в аппарат для стерилизации (*4*). После подачи сиропа в стерилизатор сюда же вводятся необходимые питательные соли из растворителя солей (*5*). Заготовленный питательный раствор стерилизуется под давлением и переводится по стерильным коммуникациям в стерильные сосуды брожения — ферментаторы (*6*). Затем охлажденный до 32—34° питательный раствор засевается конидиями гриба, штамма № 82 (Д), из инокулятора (7) или предварительно подращенным (в специальном ферментаторе для подращивания) мицелием.

После засева в ферментатор по стерильным воздуховодам подается стерильный воздух для аэрации погруженной культуры. Воздух нагнетается компрессором (*8*) и перед поступлением в ферментатор обеспложивается, проходя через противобактериальный фильтр (*9*). Перемешивание погруженной культуры гриба осуществляется путем барботирования воздуха и применения механической мешалки ферментатора, вращающейся с заданным числом оборотов. Процесс протекает при температуре 30—32°. Заданная температура сбраживаемой массы поддерживается путем обогрева или охлаждения водой, пропускаемой через рубашку или змеевик ферментатора.

Через 8—10 суток, когда прекращается нарастание титруемой кислотности, сброженный кислый раствор вместе с погруженным в него мицелием сливается из ферментатора в запарник (*10*), где мицелий убивается кипячением. Затем вся масса поступает на фильтрующий аппарат (*11*). Отфильтрованный кислый раствор переводится в сборник (*12*), а мицелий подвергается дополнительной отмывке от оставшейся в нем кислоты.

Кислые растворы поступают на переработку в кристаллическую лимонную кислоту в химический цех завода.

Выводы

Научные исследования и результаты работы производства по новой технологии показали высокую производительность процесса получения лимонной кислоты глубинным способом, сокращение расхода сахара на тонну выработанной кислоты, более рациональное по сравнению с поверхностным способом использование производственных площадей, позволяющее при этом увеличить производительность бродильных цехов действующих заводов в три с лишним раза.

Глубинный способ получения лимонной кислоты основан на применении более совершенной техники. Он позволяет механизировать трудоемкие работы, автоматизировать технологический процесс, что приводит к значительному повышению производительности труда.

При глубинном способе ведения процесса резко сокращаются потери от инфекции и повышается общая культура производства.

Глубинный способ имеет большие возможности для дальнейшего развития новой, прогрессирующей технологии (совершенствование условий питания и аэрации погруженной культуры, совершенствование технологического оборудования, переход на непрерывный процесс на основе использования опыта других микробиологических производств и т. п.).

Положительное решение проблемы получения лимонной кислоты глубинным способом следует считать новым серьезным вкладом в дело дальнейшего развития отечественной промышленной микробиологии.

Всесоюзный научно-исследовательский институт кондитерской промышленности
Ленинград

Получено 30.IX.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. Лимонная кислота как продукт технического производства. Изв. ЦНИБИПП Наркомснаба СССР, вып. 2, 1932.
2. Журавский Г. И. Глубинный способ получения лимонной кислоты с помощью грибов рода Aspergillus. ДАН СССР, LXXX, вып. 5, 1951.
3. Журавский Г. И. Спорообразование у гриба Aspergillus niger на пивном сусле в связи с повышением в нем осмотического давления. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та кондит. пром-сти, вып. 7, 1951.
4. Журавский Г. И. Получение лимонной кислоты глубинным методом сбраживания (тезисы доклада). Всес. н.-иссл. ин-т кондит. пром-сти и кондит. секция ВНИТО пищевой пром-сти, М., 1952.
5. Журавский Г. И., Новоселова Л. В., Елисеев М. И., Вулихман А. А. и Захарова Г. С. Производство пищевых кислот. Пищепромиздат, 1953.
6. Журавский Г. И. и Терентьева О. Ф. Комбинированная питательная среда, вызывающая обильное спорообразование у гриба Aspergillus niger. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та кондит. пром-сти, вып. 7, 1951.
7. Bleyer B. German Patent 434, 729, Oct. 6, 1926.
8. Karow E. a. Waksman S. Production of citric acid in submerged culture. Ind. a. Eng. Chem., **39**, 821, 1947.
9. Wells P. A. a. Ward G. E. Fermentation processes. Ind. a. Eng. Chem., **31**, 172, 1939.

ВЛИЯЮТ ЛИ ЖИРОВЫЕ ВЕЩЕСТВА ЗЕРНА НА СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ?

А. Г. Забродский и *А. Ф. Положишник*

Жировым веществам, содержащимся в зерне, в спиртовом производстве не придается существенного значения. Однако в отношении продуктов распада жиров, образующихся при порче зерна, мнения сходятся на том, что они могут отрицательно сказаться на жизнедеятельности дрожжей [8].

При этом обычно ссылаются на тот факт, что в зернах, подвергавшихся самосогреванию, прорастанию и пр., содержатся свободные жирные кислоты (масляная и др.), образующиеся из глицеридов и оказывающие вредное действие на дрожжи [2]. Происходящие во время порчи зерна процессы влекут за собой также значительное повышение кислотности за счет образования микроорганизмами органических кислот [7]. И так как на практике наблюдаются случаи пониженного выхода спирта, когда на переработку поступает зерно или мука, испорченные в результате продолжительного и неправильного хранения, то это обстоятельство обычно объясняется указанными причинами. Поэтому для определения фактического выхода спирта из дефектного зерна нередко прибегают к так называемой «бродильной пробе».

В сравнительно недавней работе Кретовича, Мишустина и Бундель [4] показано, что масло, полученное из перезимовавшего в поле зерна, вызывающее при употреблении его в пищу «септическую ангину», содержит ядовитое вещество, сильно угнетающее, при определенных условиях, спиртовое брожение. Спиртовый экстракт токсического зерна ржи и пшеницы, и особенно проса, подавлял как размножение дрожжей, так и их бродильную энергию. Нейтрализация указанных экстрактов не изменяла их токсического влияния на дрожжи. В отличие от перезимовавшего в поле зерна, искусственно испорченное путем самосогревания и плесневения зерно не обладало токсическими свойствами, и жировые вещества его, извлеченные спиртом, не оказывали влияния на брожение.

Упомянутые литературные сведения весьма кратки и не содержат данных о том, в какой мере жировые вещества могут влиять на результаты сбраживания зерна. С этой целью мы и поставили перед собой задачу проверить существование связи между выходом спирта из зерна и наличием в нем жировых веществ.

Поводом для настоящего исследования явилось и то обстоятельство, что из дефектного зерна кукурузы всегда получается меньше спирта, чем из нормального свежего зерна [3]. Наравне с другими причинами, это могло быть следствием токсического влияния на дрожжи жирных кислот, образующихся при ферментативном расщеплении глицеридов. Таким образом, как с теоретической, так и с практической точек зрения следовало уточнить это предположение.

Для исследования было взято зерно овса и кукурузы. Методика опытов была следующая. Из размолотого в муку зерна жиры извлекались серным эфиром, этиловым спиртом крепостью 96° и бензином, уд. вес 0,83. Жировые вещества быстрее экстрагировались в аппарате Сокслета эфиром, чем этиловым спиртом. Однако при экстрагировании в течение 8—12 часов жир практически полностью растворялся в спирте. При повторном

Таблица 1

Химический состав овсяной муки

Вещества	В % на сухое вещество муки		
	необезжиренной	обезжиренной бензином	обезжиренной спиртом
Азотистые вещества (N×5,7)	14,20	14,09	12,62
Белковые вещества, растворимые в крепком этиловом спирте	2,19	2,23	0,92
Белковые вещества, растворимые в 70%-ном спирте	3,03	2,92	0,63
Крахмал	39,34	41,40	43,60
Сахар (до инверсии)	0,25	0,18	Следы
Жир	4,71	0,44	0,09
Водорастворимые вещества	3,50	3,01	2,02
Зола	4,33	4,27	4,21
Клетчатка	10,93	11,11	10,63
P_2O_5	0,83	—	0,45
Кислотность (в мл *N* NaOH на 100 г муки)	11,06	5,53	2,58

экстрагировании эфиром в течение 12 часов дополнительно извлекли из обезжиренной спиртом муки 1,3% жировых веществ, обезжиренной дихлорэтаном — 2,2% и обезжиренной бензином — 6,4% жировых веществ. Таким образом, жир зерна извлекается спиртом хотя и медленнее, но довольно полно. Одновременно с этим в спирте растворялись фосфатиды, некоторое количество белковых, углеводных и других веществ зерна, что на 25—30% увеличивало выход экстракта по сравнению с другими растворителями. Извлеченный спиртом жир, после отделения нежировых веществ, по химическим показателям мало отличался от жира, извлеченного эфиром и бензином.

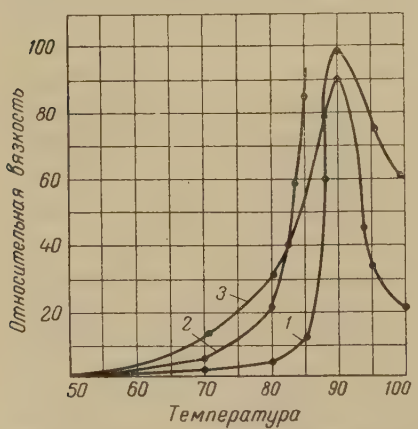


Рис. 1. Кривые относительной вязкости муки:

1 — необезжиренной, *2* — обезжиренной бензином, *3* — обезжиренной спиртом

Образцы обезжиренной и нативной муки разваривались в автоклаве при 4 атм., осахаривались солодом и сбраживались дрожжами XII расы.

По химическому составу обезжиренная бензином мука мало отличалась от исходной муки (табл. 1). Обезжиренная же спиртом мука содержала азотистых веществ меньше на 1,38% (за счет растворения авенина) и водорастворимых веществ меньше на 1,48%. Сахар из муки был извлечен спиртом полностью, органические кислоты — на три четверти, а фосфорная кислота — наполовину.

Извлечение жира из овсяной муки изменило также свойства крахмала относительно клейстеризации и вязкости мучной суспензии и способности ее к водопоглощению. На рис. 1 приводится относительная вязкость 10%-ной мучной суспензии при температуре от 20 до 100°. Из рисунка видно, что начало клейстеризации необезжиренной и обезжиренной муки произошло одновременно —при 52°. Дальнейшая клейстеризация необезжиренной муки происходила медленно, и лишь при 82° она быстро возросла, а при 90° образовался густой клейстер, вязкость которого вискозиметром Оствальда определить не представилось возможным. Обезжиренная спиртом мука клейстеризовалась быстрее: первое резкое

увеличение вязкости произошло при 62°, а при 90° вязкость достигла максимума, после чего уменьшилась.

Таким образом, наличие жировых веществ и близких к ним по свойствам фосфатидов оказывает влияние на скорость клейстеризации крахмала и температурные интервалы этого процесса. Поэтому возможно, что неодинаковая температура клейстеризации муки из зерна различных злаков обусловлена не столько отличиями мицеллярной структуры крахмала, сколько количеством и свойствами жира и фосфатидов, содержащихся в зерне.

Овсяная мука имеет обычно горький вкус, который выражен тем сильнее, чем дольше она хранится. Горький вкус является основным признаком накопления в муке продуктов расщепления жиров. Решающая роль в окислительном процессе прогоркания принадлежит непредельным жирным кислотам. При обезжиривании мука освобождается от веществ, обуславливающих горький вкус и неприятный запах.

Чтобы понять, в какой зависимости находятся биохимические свойства зерна от содержащихся в нем жировых веществ, были подвергнуты коллоидно-химическому анализу два образца муки: нативной и обезжиренной бензином. Водорастворимые вещества, пептизируемые коллоиды и способность связывать воду определены по известным методикам Думанского [1], водоудерживающая способность и пенистость — по Кульману [5], фильтруемость — по стандартному методу, с разряжением в 80 см водяного столба.

После извлечения жировых веществ заметно повысилась степень дисперсности веществ муки и ее водоудерживающая способность. В результате этого скорость фильтрации, являющейся функцией гидрофильности и дисперсности муки, явно уменьшилась (табл. 2). Для характеристики фильтрации определили время, потребное для того, чтобы отфильтровалась половина жидкости (25 мл) от начального ее количества в мучной суспензии (полупериод фильтрации).

Таблица 2

Коллоидно-химические свойства исследуемой овсяной муки

Показатели	Мука	
	исходная	обезжиренная бензином
Водорастворимые вещества (в %)	14,4	14,2
Пептизируемые коллоиды (в %)	2,4	2,7
Способность связывать воду (в %)	45,2	45,2
Водоудерживающая способность 5 г муки (в мл)	3,1	7,2
Полупериод фильтрации (в минутах)	6	15
Пенообразующая способность (в мл)	7,0	34,0
Буферность (в мл 0,1 *N* NaOH)	1,1	0,7
Кислотность (в мл *N* NaOH на 100 г муки)	8,1	4,4
pH	5,4	5,6

Способность связывать воду для исследуемых образцов оказалась одинаковой и равной 45,2%. По сравнению с обыкновенной мукой кислотность и буферность лишенной жира муки почти в два раза меньше.

Из представленных в той же таблице данных следует, что суспензия обезжиренной муки дает в пять раз больше пены, чем обычная овсяная мука. Это объясняется пеногасящим действием жировых веществ овса, состоящих в основном из олеиновой кислоты.

Исходя из приведенных данных имелись все основания считать, что осахаривание и сбраживание заторов, приготовленных из обезжиренной муки, будет происходить не хуже, чем из необезжиренной. Это предположение подтвердилось опытами, показавшими, что заторы из обезжиренной муки по своим свойствам мало отличались от заторов, приготовленных на обычной муке.

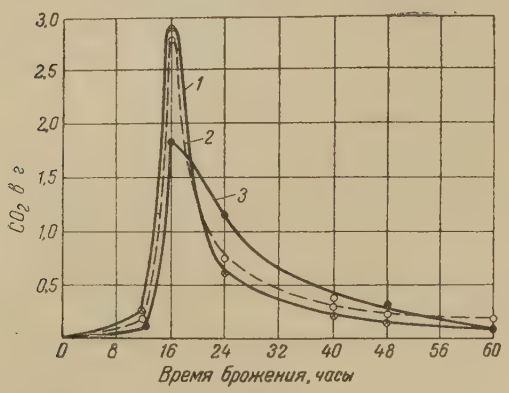


Рис. 2. Кривые брожения:
1 — необезжиренная мука, 2 — обезжиренная бензином, 3 — обезжиренная спиртом

Что же касается брожения, то оно было замедленным лишь в случае обработки зерна этиловым спиртом (рис. 2). Вероятнее всего, что причиной данного явления послужило извлечение из овса растворимых в крепком спирте белковых и содержащих фосфорную кислоту веществ, необходимых для дрожжей. Конечный результат брожения, т. е. выход спирта из 100 г крахмала, был практически одинаковый для всех испытанных образцов овсяной муки, независимо от наличия или отсутствия в ней жировых веществ (табл. 3).

В следующих опытах сбраживанию подвергалось здоровое кукурузное зерно до и после экстрагирования из него жира серным эфиром. Результаты получились те же. Нативная и обезжиренная эфиром мука из порченого зерна кукурузы вела себя при брожении одинаково. Очень мало изменились также показатели брожения при добавлении к обезжиренной муке эфирного экстракта из дефектного зерна, испорченного самосогреванием (табл. 4).

Для получения более отчетливых данных для опытов была взята самосогревавшаяся кукуруза четвертой степени порчи, с темной окраской, покрытая плесневыми грибами и другими микроорганизмами. После высушивания и размалывания она подверглась экстрагированию эфиром и спиртом. Полученные экстракты, перед развариванием в автоклаве, добавлялись к муке из нормального кукурузного зерна. Одновременно разваривались и сбраживались в тех же условиях образцы дефектного зерна, обезжиренного указанными растворителями.

Наблюдения показали, что по интенсивности брожения исходная и обезжиренная эфиром мука не отличалась друг от друга. Обезжиренная же спиртом мука по скорости брожения явно отставала (табл. 5), что являлось следствием недостатка в ней таких необходимых дрожжам веществ, как фосфор, аминокислоты и пр. Доказательством этого послужил опыт, в котором к обезжиренной спиртом муке были добавлены сернокислый аммоний и суперфосфат. В этом случае брожение протекало даже более интенсивно, чем в контроле.

Добавление к доброкачественной кукурузе спиртового и эфирного экстрактов заметно не отразилось на скорости брожения.

Заслуживает интереса факт более быстрого сбраживания дефектной кукурузы по сравнению с доброкачественной, что указывает не только на отсутствие какого-либо тормозящего действия на дрожжи продуктов распада жиров, образовавшихся в процессе самосогревания и плесневения зерна, но и на наличие в таком зерне веществ, стимулирующих жизнедеятельность дрожжей. Этими веществами, как это было ранее [2] одним из нас установлено, являются продукты расщепления белков, ускоряющих брожение, вызываемое дрожжами.

Из опытов, результаты которых помещены в табл. 6, видно, что жиро-

Таблица 3

Результаты сбраживания овсяных заторов, приготовленных из необезжиренной и обезжиренной муки

Техно-химические показатели	Необезжиренная	Обезжиренная	
		бензином	спиртом
Опыт 1			
Выделилось CO_2 (в г на 100 г затора)	5,58	5,85	5,78
Концентрация сухих веществ*	1,2	1,2	1,2
Кислотность (в мл *N* NaOH на 20 мл бражки)	0,44	0,44	0,36
Несброженные сахара (в %):			
мальтоза	0,35	0,33	0,34
глюкоза	1,18	1,06	1,06
Содержание спирта (в объемных процентах)	7,46	7,66	7,76
Выход спирта (из 100 г крахмала, в мл)	61,86	61,96	62,57
Опыт 2			
Выделилось CO_2 (в г на 100 г затора)	6,49	6,44	6,57
Концентрация сухих веществ*	1,5	1,5	1,5
Кислотность (в мл *N* NaOH)	0,56	0,50	0,52
pH	5,11	4,73	4,56
Несброженные сахара (в %):			
мальтоза	0,48	0,45	0,45
глюкоза	1,03	1,01	0,98
Содержание спирта (в объемных процентах)	8,77	8,67	8,81
Выход спирта (из 100 г крахмала в мл)	62,52	62,25	62,90
Опыт 3			
Выделилось CO_2 (в г на 100 г затора)	5,76	5,95	5,81
Концентрация сухих веществ*	1,25	1,10	1,00
Кислотность (в мл *N* NaOH)	0,60	0,42	0,44
Несброженные сахара (в % глюкозы)	1,27	1,19	1,12
Содержание спирта (в объемных процентах)	8,22	8,28	8,23
Выход спирта (из 100 г крахмала, в мл)	62,35	62,57	62,58

*По окончании брожения сухие вещества фильтрата, содержащего алкоголь, определены при помощи сахарометра.

Таблица 4

Данные о сбраживаемости нормального зерна кукурузы в необезжиренном и обезжиренном состоянии

Показатели сбраживания	Необезжиренное зерно	Обезжиренное эфиром	Обезжиренное + эфирный экстракт от дефектного зерна
Концентрация сухих веществ (по сахарометру)	—0,3	—0,4	—0,3
Кислотность (в мл *N* NaOH)	0,45	0,50	0,50
Несброженные сахара (без вычета пентоз, в %)	0,88	0,94	0,95
Содержание спирта (в объемных процентах)	9,05	9,18	9,08
Выход спирта (из 100 г крахмала, в мл)	64,11	64,28	64,00

вые вещества, извлеченные из дефектного зерна, не оказали заметного влияния на техно-химические показатели процессов осахаривания и сбраживания доброкачественного зерна.

Таблица 5

Интенсивность сбраживания (в г CO_2 на 500 г затора)

Время от начала брожения (часы)	Дефектная кукуруза			К нормальной кукурузе добавлен экстракт из дефектной кукурузы		
	необезжиренная	обезжиренная				
		эфиром	спиртом	контроль	эфирный	спиртовый
10	4,05	4,22	1,67	2,40	2,35	2,27
16	19,87	20,00	12,90	10,74	10,70	9,34
24	22,87	23,10	21,00	18,40	18,35	16,97
40	25,92	26,80	26,25	23,39	23,40	22,60
48	25,97	26,87	26,25	31,41	31,65	30,97
64	25,97	26,97	26,35	33,13	33,35	32,67

Таблица 6

Данные о сбраживаемости кукурузы нормальной и дефектной в присутствии жировых веществ

Техно-химические показатели осахаривания и брожения	Зерно нормальное			Зерно дефектное четвертой степени порчи		
	контроль	прибавлен эфирный экстракт дефектного зерна	прибавлен спиртовый экстракт дефектного зерна	контроль	обезжиренное эфиром	обезжиренное спиртом
Затор						
Светопроницаемость (в % по отношению к воде)	74	74	71	13	34	50
Концентрация сухих веществ (по сахарометру)	16,13	16,23	16,14	15,27	14,74	13,84
pH	5,8	5,7	5,7	5,5	5,5	5,8
Кислотность (в мл N NaOH)	0,18	0,24	0,23	0,36	0,35	0,28
Бражка						
Выделилось CO_2 (в г/100 г крахмала)	48,25	48,84	48,71	43,82	44,54	45,00
Концентрация сухих веществ (по сахарометру)	—0,40	—0,50	—0,35	1,2	0,9	0,4
Кислотность (в мл N NaOH)	0,42	0,47	0,48	0,50	0,52	0,50
pH	4,7	4,6	4,6	4,5	4,0	4,0
Сахар (без вычета пентоз, в % глюкозы)	0,83	0,87	0,84	1,06	0,79	0,58
Спирт (в объемных процентах)	9,028	8,970	9,084	6,70	7,08	7,01
Выход спирта (из 100 г крахмала в мл)	64,48	64,11	64,00	57,68	58,70	59,96

Следует, однако, отметить, что дефектное зерно кукурузы четвертой степени порчи после обезжиривания несколько улучшилось в своих биохимических свойствах: снизилась кислотность и цветность затора, повысилась степень сбраживания и пр. Все это указывает на то, что в эфирный экстракт, а еще больше в спиртовый, перешли частично продукты распада белков, и это ослабило образование меланоидиновых веществ при разваривании зерна в автоклаве. Общее количество выделившегося

углекислого газа и выход спирта от этого несколько увеличились, но все же они были гораздо ниже по сравнению с нормальным зерном кукурузы.

Полученные в этом опыте данные находятся в полном соответствии с ранее [3] выполненными нами исследованиями в отношении биохимических свойств самосогревавшегося зерна и причин уменьшенного выхода спирта из него в результате потерь сбраживаемых углеводов от взаимодействия их в процессе варки с продуктами распада белков.

Выводы

1. Жировые вещества как нормального, так и испорченного самосогреванием и плесневелого зерна заметно не влияют на брожение, вызываемое дрожжами.

2. Наблюдаемое на практике уменьшение выхода спирта из дефектного зерна обусловлено не продуктами распада жиров, а продуктами распада белков, дающими с углеводами несбраживаемые дрожжами меланоидиновые вещества.

Киевский филиал
Всесоюзного научно-исследовательского института
спиртовой промышленности

Получено 12.V.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Думанский А. В. Водорастворимые коллоиды в продуктах пищевой промышленности и значение их в технологических процессах. Пищепромиздат, 1943.
2. Забродский А. Г. и Кордюкова Н. С. Ускорение спиртового брожения продуктами распада белков. Микробиология, XXIII, вып. 1, 1954.
3. Забродский А. Г. и Положишник А. Ф. Меланоидинообразование в процессе тепловой обработки зерна. Биохимия, 17, вып. 6, 1952.
4. Кретович В. Л., Мишустин Е. Н. и Бундель А. А. Угнетение спиртового брожения продуктами разложения жиров. Биохимия, 11, вып. 2, 1946.
5. Кульман А. Г. Коллоиды в хлебопечении. Пищепромиздат, 1953.
6. Ситников А. П. Микробиология брожения. Пищепромиздат, 1942.
7. Трисвятский Л. А. Хранение зерна. Заготиздат, 1951.
8. Фукс А. А. Руководство по производству спирта. Пищепромиздат, ч. I, 1936; ч. II, 1940.

ОСЕДАНИЕ ДРОЖЖЕЙ ПРИ НЕПРЕРЫВНОМ СБРАЖИВАНИИ ГИДРОЛИЗАТОВ

М. Я. Калюжный, М. К. Райцева и В. А. Утенкова

Повышение выходов спирта при сбраживании древесных гидролизатов является одной из важных задач гидролизной промышленности. Решение этой задачи зависит в значительной мере от условий использования накопленных дрожжей. Известно, что на гидролизных заводах сепарированные дрожжи в возрастном отношении не представляют однородной массы. Наряду с преобладающим количеством покоящихся клеток в них имеются клетки молодые, ослабевшие и мертвые. Количество почкующихся клеток в живой популяции не превышает 15%. Такое состояние дрожжей обусловлено тем, что при возврате их снова на брожение отношение количества их к сахару увеличено примерно в шесть раз по сравнению с брожением по периодическому методу. Вследствие этого прирост молодых клеток снижен до минимума и брожение фактически протекает на старых дрожжах [1].

В процессе непрерывного брожения часть дрожжей выделяется в осадок, где они лишаются питания и голодают. При возврате таких дрожжей на брожение они увеличивают процент мертвых клеток во взвеси и снижают выход спирта. Скопление же осевших дрожжей в чанах приводит к автолизу их и накоплению белковых продуктов, способствующих развитию инфекции. Оседающие дрожжи в бродильной батарее, в том и другом случае, являются балластом и приносят ущерб производству [2, 3, 4]. Поэтому для повышения выхода спирта режим брожения должен быть уточнен, особенно при использовании сепарированных дрожжей.

Природа оседающих дрожжей и условия, препятствующие оседанию, изучены недостаточно. Мало также изучено оседание дрожжей в различных средах и совсем не изучено — при непрерывном сбраживании древесных гидролизатов.

В настоящей работе оседание дрожжей изучалось в зависимости от их активности, количества клеток, концентрации сахара в среде и от направления потока фильтрованного и нефильтрованного древесного сусла Работа проводилась с дрожжами Ленинградского завода, работавшего на расе $Л_{33}$, и Канского завода, внедрившего в 1951 г. свою «Канскую» расу.

Методика

Отобранные из чанов взвешенные и свежеосевшие дрожжи размешивались в древесном сусле или в сепарированной бражке и заливались в прибор для изучения скорости оседания. Последний представляет собой стеклянный цилиндр емкостью 9 л с металлической воронкой и краном, имеющим в пробке отверстие 25 × 15 мм. При спуске суспензии через такое отверстие достигается полное смывание осевших дрожжей.

Оседание изучалось при периодическом отстаивании и при условии непрерывности потока. При периодическом отстаивании суспензия оставлялась в приборе в течение часа, затем быстрым поворотом крана спускался литр жидкости с осевшими дрожжами, которые учитывались: в фильтрованном сусле весовым путем, а в нефильтрованном — подсчетом клеток в счетной камере.

Оседание дрожжей в зависимости от потока изучалось при нисходящем и восходящем токах. При нисходящем токе сусло и дрожжи непрерывно поступали в цилиндр сверху и отводились снизу, на уровне присоединения воронки. При восходящем же токе дрожжевая суспензия в цилиндре непрерывно двигалась снизу вверх. Величина оседания вычислялась по формуле

$$ПО = \frac{(B - A) \cdot 100}{8 \cdot A \cdot t},$$

где $ПО$ — процент оседания, A — количество дрожжей в г/л до оседания, B — количество дрожжей в г в выведенном литре снизу, 8 — объем бражки в литрах, из которого осели дрожжи за время t [6].

Отдельные фракции дрожжей получались повторным разделением в приборе осадочных дрожжей на осевшие и взвешенные.

Первой фракцией считались дрожжи осадочные, из которых при их разбавлении и отстаивании получалась вторая фракция, а из второй третья и т. д.

Спиртообразующая способность дрожжей устанавливалась по сбраживанию глюкозы.

Зависимость оседания дрожжей от их активности

Пылевидные сепарированные дрожжи содержали 15—20% мертвых клеток и давали выход спирта 50 л на 100 кг сбраживаемых РВ. Разделенные на фракции, взвешенные и свежеосевшие дрожжи при испытании в стационарных условиях показали (табл. 1), что они неоднородны как по скорости оседания, так и по спиртообразующей способности. Легко оседающие дрожжи дают спирта меньше, чем дрожжи, взвешенные в бражке. При этом активность фракций находится в обратной зависимости от их оседания и падает от первой к последней. Две последние фракции представляют собой агглютинированные дрожжи, содержащие до 40% мертвых клеток, медленно бродящие и дающие низкий выход спирта. Эти фракции дают наибольший процент оседания в единицу времени.

Таблица 1

Оседание различных фракций дрожжей и их бродильная энергия

Дрожжи 1951 г.	Фракции	Дрожжи в суспензии в г/л	Оседание в час в %	Выход спирта в % от теоретического
Взвешенные в бражке	Взвешенные	10,0	2,4	83,0
	»	10,0	5,0	81,4
	»	10,0	5,0	82,4
	Осевшая	15,6	5,0	81,1
Осевшие в чанах	1	26,5	54,5	77,6
	2	24,0	63,0	73,6
	3	15,0	71,0	—
	4	10,0	90,0	68,4

Агглютинированные дрожжи в бродильной системе сравнительно легко взмучиваются и переходят во взвешенное состояние. Количество их в пылевидной массе в бражке в отдельные периоды доходит до 7%. Поэтому

для сохранения однородности дрожжей необходимо удалять из сферы брожения оседающие дрожжи.

Наблюдения показывают, однако, что в том случае, если бродильная батарея работает на хлопьевидной расе дрожжей, дрожжевые осадки нередко пополняются дрожжами, еще не потерявшими нормальной бродильной энергии, особенно при перебойной работе батареи.

Зависимость оседания дрожжей от их концентрации и концентрации сахара в бражке

В этих опытах суспензия сепарированных дрожжей с концентрацией 150 г/л разбавлялась до 45 и 10 г/л в одном случае сепарированной бражкой, а в другом — древесным суслом. Оседание изучалось в стационарных условиях.

Таблица 2

Зависимость оседания дрожжей от их сгущения и концентрации сахара в бражке

РВ в бражке в %	Дрожжи в г/л		Оседание в час в %
	в суспензии	в осадке	
Сепарированная бражка без сбраживаемого сахара	10,0	4,0	5,0
	22,5	13,0	7,2
	25,0	20,0	10,0
	35,0	35,0	30,0
	40,0	121,0	38,0
	45,0	181,0	50,0
2,86	20,0	5,0	3,1
0,71	20,0	10,0	6,2
1,30	25,0	6,8	3,4
1,70	25,0	27,0	13,5
1,60	30,0	6,2	2,6
0,61	30,0	85,0	35,3
2,86	40,0	11,0	3,0
0,65	40,0	176,0	49,0

Испытания показали (табл. 2), что в бражке, не содержащей сбраживаемого сахара, оседание дрожжей находится в строгой зависимости от их концентрации. Так, при 25 г/л за час выделяется в осадок 10% и в отдельных случаях 15% клеток, а при 35—45 г/л за тот же срок оседает от 30 до 50% дрожжей. В бродящей же бражке, с интенсивным выделением углекислого газа, при содержании сахара более 1%, концентрация 30 и 40 г/л дрожжей легко удерживается во взвеси и дает малый и практически однозначный процент оседания.

Однако при содержании сахара в бражке меньше 1% — из-за малого выделения углекислого газа концентрация дрожжей 30 и 40 г/л дает такую же картину оседания, как и в бражке, не содержащей сбраживаемого сахара, т. е. оседает от 30 до 50% дрожжей. Это говорит о том, что непрерывное брожение на высокой концентрации дрожжей невозможно из-за большого их оседания.

Иное наблюдается при брожении на концентрациях дрожжей до 20 г/л. Здесь как при большом, так и при малом выделении углекислого газа основная масса дрожжей находится во взвеси и дает небольшое оседание. Поэтому при непрерывном сбраживании гидролизатов не следует брать концентрацию дрожжей выше 20 г/л. Концентрация дрожжей ниже 20 г/л и при перебоях в работе не дает большого оседания.

Влияние направления потока на оседание дрожжей [1]

Оседание дрожжей в зависимости от движения бражки изучалось при нисходящем и восходящем токе. Средой для брожения служило смешанное с дрожжами нефильтрованное сусло, струя которого, ответвленная от заводского потока, непрерывно подавалась в прибор в количестве от 3 до 24 л в час. Средняя величина оседания при каждой скорости проверялась в серии опытов. Каждый опыт длился три часа (табл. 3).

Таблица 3

Оседание дрожжей в зависимости от концентрации сахара, направления и скорости потока

Подача сверху и отбор снизу, нисходящий поток				Подача снизу и отбор сверху, восходящий поток				Выход спирта в л на 100 кг истраченных РВ при брож. дрожжами	
Скорость в л/час	РВ в бражке в %	Дрожжей в суспензии в г/л	Оседание в час в %	Скорость в л/час	РВ в бражке в %	Дрожжей в суспензии в г/л	Оседание в час в %	взвешенными	осевшими
3	1,94	8,25	1,05	5	1,38	4,50	4,64	—	—
3	1,41	5,80	1,43	10	1,20	4,90	3,78	52,6	52,6
3	1,29	4,70	1,58	10	0,74	4,62	3,46	58,1	59,4
6	1,08	2,46	4,45	14	1,40	4,68	2,74	56,0	56,4
6	0,76	3,30	6,17	18	1,84	3,38	2,51	55,9	56,3
6	0,72	5,80	6,05	24	1,48	3,61	2,31	51,2	53,6

Опыты показали, что при восходящем токе дрожжей оседает меньше, чем при токе нисходящем. В последнем случае мало оседает клеток только при интенсивном брожении, где сахара в среде больше 1%. В этом случае и в нефильтрованном сусле дрожжи так же легко удерживаются во взвеси, как и в фильтрованном сусле.

Интенсивное выделение углекислого газа, вызывающее перемешивание бражки, перекрывает влияние наравления потока.

Поэтому можно считать, что при содержании сахара в бражке больше 1% направление потока не оказывает существенного влияния на оседание дрожжей. При содержании же сахара в бражке меньше 1% дрожжей оседает при нисходящем токе больше, чем при восходящем. При этом из нефильтрованного сусла оседает дрожжей больше, чем из фильтрованного и, как показали испытания, осевшие дрожжи по активности уже равнозначны взвешенным. Следовательно, в бражке с малым выделением углекислого газа нисходящий ток влияет на оседание не только ослабевших, но и активных дрожжей.

Активность оседающих дрожжей в зависимости от частоты обновления среды

При брожении с содержанием дрожжей 3 г/л (естественная популяция в гидролизате) и обновлении среды один раз в сутки различия в активности между осевшими и взвешенными клетками не наблюдается, и те и другие дают низкий выход спирта. Необходимо было выяснить различие между осевшими и взвешенными клетками при брожении с количеством сепарированных дрожжей 18 г/л и обновлении среды четыре раза

[1] Эта часть работы проводилась при участии в руководстве К. П. Андреева.

в сутки. Для этого из чанов, оборудованных конусными днищами и выгребными механизмами, оседающие дрожжи выводились ежедневно в количестве примерно 10% от взвешенных дрожжей в бражке. В опытах взвешенные и осевшие дрожжи сбраживали древесное сусло.

Таблица 4

Активность взвешенных и осевших дрожжей Канского завода

№ опыта	Дрожжи 1951 г. Канская раса	РВ в сусле в %	Спирт в бражке		Выход спирта в % от теоретического	Время брожения в часах
			в %	выход на 100 кг сахара в л		
1	Взвешенные . . .	3,26	1,38	54,7	85,0	10
	Осевшие		1,28	50,4	78,2	18
2	Взвешенные . . .	3,18	1,39	57,4	89,0	8
	Осевшие		1,33	54,9	85,0	20
3	Взвешенные . . .	3,0	1,37	58,5	90,8	12
	Осевшие		1,31	56,0	86,9	18

Испытания показали (табл. 4), что осевшие дрожжи бродят медленнее и из сброженного сахара дают спирта меньше, чем дрожжи взвешенные. Следовательно, четырехкратное обновление среды в сутки не устраняет инактивирования оседающих дрожжей при брожении с содержанием их 18 г/л. Поэтому удаление оседающих дрожжей из чанов является неотъемлемой частью режима непрерывного брожения.

Выводы

1. Скорость оседания пылевидных дрожжей при сбраживании фильтрованного сусла меньше, чем при сбраживании нефильтрованного.

2. На скорость оседания дрожжей оказывает влияние содержание клеток в единице объема, концентрация сахара и направление движения сусла.

При нисходящем токе дрожжей оседает больше, чем при восходящем. Количества дрожжей до 20 г/л легко удерживаются во взвеси как в бродящей, так и в отбродившей бражке фильтрованного и нефильтрованного сусла и дают малый процент оседания.

3. Осевшие дрожжи медленно бродят и спирта дают меньше, чем дрожжи взвешенные.

4. Сбраживание древесных гидролизатов по непрерывному методу должно проводиться при количестве дрожжей 15—20 г/л, при планомерном отборе оседающих дрожжей.

Всесоюзный научно-исследовательский институт гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности
Ленинград

Получено 1.X.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калюжный М. Я. Скоростное непрерывное сбраживание древесного сусла. Гидролизная промышленность СССР, № 6, 1948.
2. Квасников Е. И. и Богуславская А. И. Корреляция между процессами размножения дрожжей и брожением. Бюлл. АН Узб. ССР, № 5, стр. 10, 1946.
3. Лебедев С. В. Метод непрерывного спиртового брожения. Пищепромиздат, М., 1936.
4. Пастер Луи. Исследования о брожении. 1938.

РОЛЬ ДРОЖЖЕЙ В СИЛОСОВАНИИ КОРМОВ

Р. Д. Зубкова

Вопрос о практическом использовании дрожжей при силосовании кормов мало изучен.

В настоящее время по этому вопросу существуют два мнения. Одни исследователи считают роль дрожжей отрицательной, так как, развиваясь в силосе, дрожжи используют сахара и тем самым препятствуют накоплению молочной кислоты в нем. Другие же отмечают исключительно положительную роль дрожжей. Они считают, что искусственное обогащение дрожжевыми закваскими силосуемых кормов улучшает количество последних, приводит к усилению молочнокислого брожения и содействует сбережению белка [1, 2].

Целью данной работы являлось изучение условий размножения некоторых штаммов дрожжей из родов Saccharomyces и Torula в силосуемых растениях и их влияние на качество силоса.

Опыты проводились в лабораторных условиях.

В качестве силосуемых растений использовались кукуруза и подсолнечник. Измельченный обычным способом растительный материал набивался в литровые банки, которые герметически закрывались.

При проведении предварительных опытов с соломой выяснилось, что размножение дрожжей идет интенсивнее при более слабой утрамбовке Поэтому опыты на кукурузе и подсолнечнике мы ставили на материале, утрамбованном не очень плотно. Но это привело к порче силоса в опытах продолжительностью в 2—4 недели, поэтому дальнейшие опыты проводились на силосе, утрамбованном обычным способом.

Для закваски применялись следующие дрожжи: Saccharomyces штамм 54 и Torula utilis. Оба штамма взяты из лабораторной коллекции. Кроме того, использовались два штамма пленчатых аспорогенных дрожжей (10 С и 11 С), выделенные в процессе силосования соломы. Эти дрожжи введены были в закваску для того, чтобы быстрее создать в силосе анаэробные условия.

Для молочнокислой закваски применялся местный штамм молочнокислых бактерий типа Streptobacterium plantarum.

Чтобы изучить динамику накопления дрожжей, опыты ставились серийно. Каждая серия опытов состояла из четырех вариантов в четырех повторностях для вариантов с применением дрожжевой закваски и в двух повторностях для вариантов с молочнокислой закваской и контроля.

Варианты опытов:

1. К измельченной растительной массе добавлялась дрожжевая закваска в количестве 2,5% от веса массы.

2. Дрожжевая закваска в смеси с молочнокислыми бактериями в соотношении: дрожжевой закваски 2,5%, а молочнокислых бактерий 0,25% от веса массы.

3. Закваска молочнокислых бактерий в количестве 0,5% от веса массы.

4. Контроль — силосование без закваски.

Снятие опытов производилось через 5, 10, 15 и 30 дней.

Качество силоса определялось: по pH среды, по содержанию молочной кислоты, по количеству летучих и связанных кислот. Летучие и связанные кислоты определялись по методу Вигнера.

Производился также учет количества дрожжей и молочнокислых бактерий путем высева исследуемого материала в начале опыта и через 5, 10, 15 и 30 дней.

Для опытов использовались кукуруза и подсолнечник в различные сроки вегетации. Кукуруза применялась в момент выбрасывания метелки и в период молочной зрелости, а подсолнечник в период образования шляпок и цветения.

Первая серия опытов была поставлена с кукурузой в момент выбрасывания метелки и подсолнечником, взятым в период образования шляпок. При этом влажность была у кукурузы 85,8%, у подсолнечника — 88,2%, сахаристость у кукурузы — 1,54%, у подсолнечника — 3,04%.

Эта серия опытов, как указывалось выше, проводилась с недостаточно плотно утрамбованной массой. Поэтому даже в варианте, где применялась только молочнокислая закваска, силос получился неудовлетворительного качества. Так, например, через пять дней величина pH была 5,1, а через 30 дней — 4,8. Цвет силоса был зеленый, запах — фруктовый.

В варианте без молочнокислой закваски силос получился несколько ниже качеством, чем в вышеуказанном варианте. Здесь активная кислотность была: через пять дней — 5,3, через 30 дней — 5,0. Цвет силоса был зеленый, запах — слабокислый.

В вариантах, где применялась только дрожжевая закваска, наблюдалось интенсивное размножение дрожжей в первые пять дней. Количество их за этот период увеличивалось почти в 30 раз по сравнению с первоначальным. Затем содержание дрожжей резко падало, и в конце опыта их осталось незначительное количество. Несмотря на то, что размножение молочнокислых бактерий протекало довольно энергично (количество их увеличивалось по сравнению с контролем в 2000 раз), накопление молочной кислоты было незначительным, что привело к порче силоса. Так, например, активная кислотность была: в опыте, снятом через пять дней,— 5,7, через 10 дней — 5,5, через 15 дней — 5,9 и через 30 дней — 6,0. К концу опыта в этом силосе наблюдалось наличие масляной кислоты в свободном состоянии 0,25% и связанном — 0,20%. Силос имел зеленый цвет и запах гнилой капусты. Примерно такая же картина наблюдалась и в варианте с применением вместе дрожжевой и молочнокислой закваски.

В опытах на подсолнечнике получены аналогичные результаты.

Анализируя данные этой серии опытов, мы видим, что порча силоса наблюдалась главным образом в опытах с недостаточно плотной утрамбовкой растительной массы, где имело место интенсивное развитие дрожжей. Поэтому дальнейшие опыты мы ставили на материале, утрамбованном обычным способом.

Следующая серия опытов была поставлена с кукурузой — в момент молочной зрелости и подсолнечником — в период цветения. Результаты опытов сведены в табл. 1 и 2.

Анализируя данные таблиц, мы видим, что размножение дрожжей в условиях этих опытов было незначительным, а в некоторых вариантах полностью отсутствовало. Внесение в силос только дрожжевой закваски (2,5%) несколько снижает его качество. Об этом говорят данные опыта с кукурузой, имевшей в момент молочной зрелости влажность 86,8% и сахаристость 5,3% (табл. 1, опыты № 5—8). В варианте этого опыта с внесением дрожжевой закваски активная кислотность через пять дней была 5,1; в варианте опыта с внесением дрожжевой и молочнокислой закваски величина pH была 5,0; в опыте, где применялась только молочнокислая закваска,— 4,2, и, наконец, в опыте без закваски (контроль) — 4,4. Размножение дрожжей в данном опыте практически отсутствовало, так как на пятый день опыта количество их в 1 г силоса было ниже внесенного. Повидимому, внесение в силос сравнительно большого количества дрожжевых клеток (2 200 000 в 1 г силоса) несколько задерживает

Таблица 1

Опыт с кукурузой в момент молочной зрелости

№ опыта	Варианты	Продолжительность опытов в днях	Количество микроорганизмов в 1 г силоса		pH	Молочная кислота в %	Летучие кислоты в %		Связанные кислоты в %		Цвет	Запах
			дрожжей	молочнокислых бактерий			уксусная	масляная	уксусная	масляная		
	Влажность 88,2% и сахаристость 3,86%											
1	Дрожжевая закваска	0	25.10^5	40.10^4	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	40.10^5	30.10^7	5,0	—	—	—	—	—	Зеленый	Приятный, травянистый
		10	27.10^3	17.10^7	4,5	—	—	—	—	—	»	Квашеных овощей
		15	13.10^3	72.10^6	5,4	—	—	—	—	—	Желтоватый	Зловонный
		30	10^2	82.10^6	5,2	0,40	0,34	0,25	0,41	0,35	»	»
2	Дрожжевая закваска в смеси с молочнокислыми бактериями	0	19.10^5	23.10^5	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	35.10^5	29.10^7	4,8	—	—	—	—	—	Темнозеленый	Резко кислый, но приятный
		10	60.10^3	22.10^7	4,5	—	—	—	—	—		Приятный, квашеных овощей
		15	31.10^3	60.10^6	5,2	—	—	—	—	—	Желтоватый	Гнилостный
		30	10^3	30.10^6	5,4	0,10	0,30	0,17	0,24	0,55	»	»
3	Закваска молочнокислых бактерий	0	51.10^2	27.10^5	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	41.10^3	23.10^6	4,5	—	—	—	—	—	Зеленый	Приятный, слабокислый
		30	0	15.10^6	4,0	1,53	0,40	0	0,21	0	Оливковый	То же
4	Контроль (без закваски)	0	45.10^2	35.10^4	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	30.10^4	57.10^6	4,8	—	—	—	—	—	Зеленый	Приятный, слабокислый
		30	46.10^2	26.10^6	4,0	1,51	0,37	0	0,25	0,01	Оливковый	То же

Таблица 1 (продолжение)

№ опыта	Варианты	Продолжительность опытов в днях	Количество микроорганизмов в 1 г силоса		pH	Молочная кислота в %	Летучие кислоты в %		Связанные кислоты в %		Цвет	Запах
			дрожжей	молочнокислых бактерий			уксусная	масляная	уксусная	масляная		
			Влажность 86,8% и сахаристость 5,3%									
5	Дрожжевая закваска	0	22.10^5	74.10^3	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	15.10^5	17.10^7	5,1	—	—	—	—	—	Зеленый	Приятный
		10	35.10^4	12.10^7	5,0	—	—	—	—	—	Темнозеленый	Сладковатый, травянистый
		15	13.10^3	72.10^6	5,0	—	—	—	—	—	„	Приятный, кисловатый
		30	10^2	34.10^6	4,5	1,12	0,25	0,20	0,13	0,05	„	Квашеных овощей
6	Дрожжевая закваска в смеси с молочнокислыми бактериями	0	22.10^5	33.10^5	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	10^4	30.10^7	5,0	—	—	—	—	—	Темнозеленый	Приятный, кисловатый
		10	75.10^3	11.10^7	4,5	—	—	—	—	—	„	То же
		15	65.10^3	20.10^7	4,5	—	—	—	—	—	„	„
		30	35.10^2	22.10^6	4,2	1,03	0,35	0	0,14	0,02	„	„
7	Закваска молочнокислых бактерий	0	13.10^3	37.10^5	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	65.10^4	30.10^7	4,2	—	—	—	—	—	Зеленый	Приятный
		30	12.10^4	26.10^5	4,0	1,45	0,25	0	0,19	0	„	Приятный, фруктовый
8	Контроль (без закваски)	0	13.10^3	11.10^4	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	37.10^4	33.10^7	4,4	—	—	—	—	—	Зеленый	Приятный
		30	51.10^2	17.10^5	4,0	1,25	0,5	0	0,20	0	„	Приятный, фруктовый

Таблица 2

Опыт с подсолнечником в период цветения (влажность — 89,5%, сахаристость — 2,12%)

№ опыта	Варианты	Продолжительность опытов в днях	Количество микроорганизмов в 1 г силоса		pH	Молочная кислота в %	Летучие кислоты в %		Связанные кислоты в %		Цвет	Запах
			дрожжей	молочнокислых бактерий			уксусная	масляная	уксусная	масляная		
1	Дрожжевая закваска	0	16.10^5	11.10^3	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	38.10^5	80.10^6	5,2	—	—	—	—	—	Темнозеленый	Приятный
		10	70.10^2	57.10^6	5,4	—	—	—	—	—	„	Приятный, кисловатый
		15	15.10^2	29.10^6	4,8	—	—	—	—	—	„	То же
		30	10^2	10^6	6,5	0,2	0,16	0	0,11	0,35	„	Гнилостный, тухлый
2	Дрожжевая закваска в смеси с молочнокислыми бактериями	0	23.10^5	58.10^5	—	—	—	—	—	—	„	—
		5	45.10^6	39.10^7	5,4	—	—	—	—	—	„	Приятный, пахнет подсолнечником
		10	15.10^5	37.10^7	4,8	—	—	—	—	—	„	То же
		15	42.10^2	53.10^6	4,6	—	—	—	—	—	„	„
		30	625	90.10^6	5,0	0,40	0,25	0	0,46	0,45	Темный	Приятный
3	Закваска молочнокислых бактерий	0	18.10^2	66.10^5	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	12.10^3	53.10^7	4,5	—	—	—	—	—	Темнозеленый	Приятный, кисловатый
		30	0	92.10^5	4,2	1,01	0,36	0	0,27	0	„	То же
4	Контроль (без закваски)	0	20.10^2	10^3	—	—	—	—	—	—	—	—
		5	42.10^2	68.10^7	5,6	—	—	—	—	—	Темнозеленый	Неприятный
		30	0	25.10^6	5,5	0,32	0,29	0	0,15	0,17	Коричневый	„

процесс накопления молочной кислоты, что при длительном хранении может привести к порче силоса.

Во всех сериях опытов наблюдалось интенсивное размножение молочнокислых бактерий.

Аналогичная картина наблюдалась и в опытах с подсолнечником (табл. 2).

Выводы

Условия, благоприятные для размножения дрожжей при силосовании кукурузы и подсолнечника, а также введение в силос дрожжевой закваски приводят к снижению кислотности силоса, а следовательно, и его качества, хотя при этом наблюдается интенсивное размножение молочнокислых бактерий.

Сектор микробиологии
Академии наук КазССР
Алма-Ата

Получено 25.I.1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубрилин А. А., Мишустин Е. Н. и Харченко В. А. Силос. Сельхозгиз, 1950.
2. Мишустин Е. Н. Научные основы силосования кормов. Сельхозгиз, 1953.

ДИСКУССИЯ

К ДИСКУССИИ ПО ВОПРОСАМ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Т. В. Аристовская

В статье Я. П. Худякова «Современное состояние и задачи микробиологии почвы» (1954) подняты весьма важные вопросы. Оставляя в стороне некоторые допущенные автором ошибки и неточности, уже отмечавшиеся другими участниками дискуссии (Кононова, 1954, и др.), позволю себе остановиться на некоторых основных положениях этой статьи. Худяков справедливо указывает на необходимость изучения микроорганизмов непосредственно в почве, но в то же время подчеркивает отсутствие достаточно надежных методических средств для такого рода исследований. Несомненно, существующие прямые методы изучения почвенной микрофлоры весьма относительны, но все же при всей их относительности они дают возможность получать в ряде случаев весьма ценные для характеристики микроценозов почвы данные. В частности, например, использование модифицированного метода Холодного позволило Рыбалкиной и Кононенко (1953) установить некоторые закономерности распределения микроорганизмов в почве, а также выявить взаимоотношения между отдельными компонентами микробных комплексов.

Основываясь на высказываниях С. Н. Виноградского об ограниченности метода чистых культур и принимая во внимание своеобразие почвы как среды обитания, некоторые исследователи практически отрывают почвенную микробиологию от микробиологии общей, что вряд ли можно считать правильным. Наиболее отчетливо такая тенденция проявляется в работах Лазарева (1949), где за микробными ассоциациями не видно микроорганизмов с их индивидуальными особенностями и требованиями к окружающей среде. Нельзя забывать, что микробные ассоциации слагаются из совершенно определенных видов микроорганизмов, отличающихся определенными физиологическими свойствами. Между этими видами в почве складываются определенные взаимоотношения, характер которых можно раскрыть только на основании изучения эколого-физиологических и биохимических особенностей отдельных представителей ценоза.

Работами Мишустина (1947 и др.) установлено, что различные почвы характеризуются не только разным видовым составом одних и тех же физиологических групп микроорганизмов, но даже одни и те же виды представлены в них разными экологическими расами, отличающимися друг от друга целым рядом морфолого-физиологических свойств. В свете этих фактов становится совершенно очевидной недопустимость изучения микробных ассоциаций только в целом, без анализа их качественного состава и без учета физиологической активности их компонентов.

Несомненно, что выявление природных сообществ микроорганизмов необходимо для понимания происходящих в почве микробиологических процессов. Однако недостаточно лишь констатировать наличие в почве той или иной группы бактерий, необходимо произвести эколого-физиологический анализ отдельных представителей рассматриваемой ассоциации, а также изучить характер вызываемых ими процессов в их тесной зависимости от условий среды. К сожалению, последней стороне вопроса поч-

венными микробиологами в настоящее время не уделяется должного внимания, на что уже указывала в своей статье Кононова (1954). Микробиологи изучают преимущественно микроорганизмы почвы, а не микробиологические процессы.

Совершенно естественно, что конечной целью изучения микрофлоры почвы является получение возможности в дальнейшем управлять почвенно-микробиологическими процессами. Одним из важных этапов на пути к разрешению этой задачи могло бы явиться выяснение положения кардинальных точек разных факторов среды для каждого из интересующих нас процессов. Зная кардинальные точки, мы сможем, путем изменения условий, изменять и интенсивность и направление биохимической деятельности микрофлоры.

Значение использования кардинальных точек для управления функциями организма неоднократно подчеркивал в своих работах Селибер (1921). Несомненно, приложение этого же принципа к изучению биохимических процессов в области почвенной микробиологии может оказаться весьма плодотворным. Важно знать, не только какие бактерии или грибы имеются в той или иной почве, необходимо также выяснить, как протекает там их жизнедеятельность. В настоящее время очень часто микробиолог ограничивается изучением лишь качественного состава микрофлоры и не задумывается над тем, как эта флора проявляет себя в почве, насколько она там активна. Принято считать, что наличие достаточного количества представителей определенных физиологических групп микроорганизмов уже само по себе является показателем биологической активности и плодородия почвы. На основании данных только о составе микрофлоры делаются выводы не только о направлении, но и об интенсивности микробиологических процессов, что не всегда оказывается верным.

Справедливость сказанного можно иллюстрировать нашими данными, полученными при изучении микрофлоры окультуриваемых северных подзолов. Проведение обычного группового анализа позволило обнаружить в этих почвах довольно большое количество целлюлозных бактерий, которые интенсивно развивались при засеве среды Гетчинсона почвенной взвесью из 3—4-го разведения уже на 7—10-й день после посева. Казалось бы, на этом основании можно было заключить, что все предпосылки для бактериального процесса разложения клетчатки в этой почве имеются. Однако постановка опытов с той же почвой по методу Христенсена показала, что в природных условиях целлюлозные бактерии, повидимому, не играют никакой роли в разложении клетчатки в этой почве, а процесс осуществляется преимущественно плесневыми грибами и до некоторой степени актиномицетами.

Целлюлозные бактерии попали в почву с навозным удобрением и хотя и сохранили на какой-то период времени свою жизнеспособность, оказались не в состоянии проявить свою физиологическую активность в указанном направлении. Приведенные данные лишний раз доказывают ограниченность применяемых методов почвенно-микробиологических исследований, с одной стороны, и необходимость более глубокого анализа — с другой.

Несомненно, что на основании данных только описательной экологии, т. е. перечня микроорганизмов, характерных для определенных мест обитания, трудно делать выводы относительно роли тех или иных видов в природных процессах. Для решения этого вопроса необходимо получение соответствующего физиологического (биохимического) фундамента.

Это не значит, конечно, что описательная экология, или география, микроорганизмов совсем не нужна и все вопросы следует решать только путем физиологического эксперимента. Речь идет только о необходимости разностороннего подхода, при умелом сочетании всех имеющихся в распоряжении современного микробиолога средств. Иными словами, на-

блюдение за поведением микробных сообществ непосредственно в почве следует сочетать с детальным изучением биохимической деятельности как отдельных их компонентов, так и всего комплекса в целом в условиях лабораторного опыта. Одновременно с этим должно проводиться и изучение характера течения микробиологических процессов непосредственно в данной почве.

Возвращаясь к вопросам, поднятым в статье Худякова, следует заметить, что автор довольно много внимания уделяет рассмотрению своеобразия условий существования микроорганизмов в почве. Здесь говорится и о диффузии химических веществ, и о метабиотических взаимоотношениях микроорганизмов — «что один организм выделил, то другой усвоил» и т. д. Однако из всего этого не сделано вывода об основном свойстве почвы как среды обитания, о ее главном отличии от питательной среды, засеянной чистой культурой каких-либо бактерий.

Этим особым свойством почвы является ее способность к регулярному самообновлению. Как известно, почва представляет собой динамическую систему, в которой непрерывно протекают самые разнообразные процессы, находящиеся в относительном равновесии друг с другом. Благодаря этим процессам каждая почва в течение длительного срока сохраняет относительное постоянство своих физико-химических свойств, свою качественную определенность. Это не значит, конечно, что в химическом составе почвы не происходит никаких изменений. Мы знаем, что в разные годы, а также в течение сезона наблюдаются значительные колебания в величине pH, в количестве разных форм азота, в содержании гумуса и т. д. Однако, как правило, эти изменения в значительной степени обратимы (мы не рассматриваем здесь изменений эволюционного порядка) и по своему размаху не идут ни в какое сравнение с теми глубокими и практически необратимыми изменениями, которые происходят в наших стационарных питательных средах под влиянием развивающихся на них микроорганизмов.

Иллюстрацией сказанному может служить сопоставление хотя бы изменений величины pH в почве и в культуре плесневых грибов. По данным Абрамовой (1947), pH одной и той же почвы в течение вегетационного сезона изменяется в пределах 1,5—2 единиц, тогда как некоторые плесневые грибы, как известно, в течение 2—3 суток могут изменить pH среды на 3—5 единиц. По сравнению со стационарной культурой микроорганизмов, где происходит постепенное истощение субстрата и накопление продуктов обмена, приводящее в конце концов к резким и необратимым изменениям физико-химических свойств первоначальной среды (а также к самоотравлению популяции и гибели значительной части ее клеток или переходу их в неактивное состояние), почва обладает в известном смысле слова «буферными» свойствами. Это происходит благодаря тому, что образование каких-либо веществ сопровождается или их выносом за пределы того горизонта, где они образовались, или их дальнейшим превращением биологическими или химическими агентами. Так, процесс образования гумусовых веществ в известных пределах компенсируется процессами их минерализации, благодаря чему общее содержание гумуса в почве в общем остается практически на одном и том же уровне в течение многих лет (если, конечно, не происходит каких-либо коренных изменений нормального развития процесса, вроде, например, вмешательства человека в природный процесс и т. д.).

Таким образом, если почва представляет собой в общем систему самообновляющуюся, проточную, то наши стационарные культуры, даже на самых элективных средах, позволяют создать лишь весьма отдаленное подобие природы. Совместное выращивание нескольких видов на одной и той же питательной среде несколько изменяет соотношения, поскольку таким образом обеспечивается частичное удаление (разложение) продуктов обмена, но все же в конце концов и в смешанной культуре насту-

пают явления застоя, и биологические процессы затухают. Для возобновления процесса необходимо либо добавить к такой культуре свежий субстрат, либо пересеять ее на другую среду.

В почве как удаление продуктов обмена, так и приток свежего субстрата обусловливается проточностью, которая может создаваться разными путями. В наиболее простом случае она сводится к передвижению воды, а вместе с ней и растворенных минеральных и органических веществ по почвенным капиллярам. Однако наряду с передвижением воды в почве происходит диффузия газов, создающая воздушную проточность системы. Взаимодействие различных химических веществ друг с другом, передвижение ионов в водных растворах и, наконец, метабиотические взаимоотношения между микроорганизмами также способствуют самообновлению почвы, созданию проточных условий. Гетерогенность почвы в вертикальном и горизонтальном направлениях, одновременное наличие в ней веществ, находящихся в жидком, твердом и газообразном состоянии обусловливают возможность сопряженного течения аэробных и анаэробных процессов, создают условия для одновременного развития микроорганизмов, резко различных по своей природе, что также увеличивает степень проточности рассматриваемой системы в целом.

Таким образом, в почве происходит не только простое перемещение веществ в пространстве, но также и регулярно совершающееся обновление среды, которое может быть вызвано целым комплексом самых разнообразных причин: механических, физико-химических, химических и биологических.

Проточность обеспечивает для микроорганизмов известное относительное постоянство условий существования, регулярное удаление продуктов их обмена и более или менее регулярный приток свежего энергетического материала и пищи. В застое, напротив, продукты обмена микроорганизмов никуда не выносятся, а постепенно накапливаясь в окружающей их среде, вызывают явления самоотравления, в результате которых биологические процессы затухают.

Не приходится сомневаться в том, что различные почвы характеризуются разной степенью проточности и даже в одной и той же почве явления проточности могут сменяться и безусловно сменяются явлениями застоя, хотя этот застой, как и всякое состояние покоя в природе, относителен. Таким образом, проточность в почве носит неравномерный, прерывистый характер и, вероятно, именно с моментами прерывистой проточности и связаны явления периодизма в развитии микроорганизмов в почве.

Уже из данного определения почвы как среды, регулярно самообновляющейся, вытекают и необходимость и возможность новых методических приемов и принципов ее изучения. Очевидно, для понимания протекающих в ней процессов нужно изучать микроорганизмы почвы не только в стационарных культурах, но также и в условиях, моделирующих условия самообновления среды, т. е. в проточных культурах. Несмотря на то, что проточные культуры вовсе не являются в микробиологии новостью, они до сих пор не получили сколько-нибудь значительного распространения — вероятно, в силу значительных сложностей предлагавшихся методов их осуществления.

Исходя из представления о почве как о системе проточной, мы сделали попытку изучения обмена веществ некоторых представителей почвенной микрофлоры в условиях проточных культур. Поскольку в настоящее время почти ничего не известно о том, как будет влиять фактор систематического обновления среды на характер и направление вызываемых микроорганизмами процессов, мы сочли себя вправе провести работу на первых ее этапах лишь с чистыми культурами микроорганизмов, с тем, чтобы в дальнейшем перейти к изучению этого вопроса непосредственно в условиях почвы. Так как результаты этого исследования (проведенного

в Центральном музее почвоведения АН СССР) являются предметом отдельного сообщения, нет надобности останавливаться на них сколько-нибудь подробно, отметим лишь наиболее существенные моменты. Опыты проводились с одним из наиболее распространенных в северных почвах микроорганизмов, с Penicillium sp., выделенным из гумусово-железистого подзола.

Исследуя жизнедеятельность и обмен веществ этого организма в проточных и стационарных условиях, мы установили, что в проточной среде наблюдается в два с лишним раза большее накопление мицелия, чем в стационарной культуре, причем гриб, развивающийся в проточных условиях, длительное время остается в вегетативном состоянии, тогда как в стационарной культуре начинает быстро спороносить. Ферментативная активность пленки, выросшей в проточной среде, оказывается в полтора-два раза выше, чем активность контрольного мицелия. При этом в случае использования в качестве источника углерода веществ, не проникающих через клеточную оболочку (например, крахмала), проточность не только вызывает усиленную продукцию, но и усиленное выделение фермента из клетки в окружающий раствор. В соответствии с повышенной биохимической активностью грибной пленки проточной культуры находится и ее способность перерабатывать на единицу веса значительно большие количества субстрата, по сравнению с пленкой стационарной культуры. Вместе с тем проточность способствует образованию более высоко окисленных конечных продуктов обмена. Таким образом, обновление субтрата является мощным фактором, в значительной степени определяющим интенсивность и направление биохимических процессов.

Мы ни в коей мере не склонны считать, что полученные результаты можно всецело и без всяких оговорок отнести и к микроорганизмам, развивающимся непосредственно в почве, хотя есть основания полагать, что и в условиях почвы проточность будет влиять на организм приблизительно в том же направлении. Следует учитывать, что проточная чистая культура значительно больше соответствует естественной, природной обстановке организма, чем культура стационарная. Поскольку природные метабиотические отношения между микроорганизмами являются одним из факторов самообновления среды, биологическое окружение организма до некоторой степени может быть заменено проточностью удачно подобранного субстрата.

Таким образом, применение принципа проточности открывает перед нами еще неиспользованные возможности для создания условий более или менее близких к естественным, природным условиям, даже в том случае, если мы будем иметь дело пока главным образом с чистыми культурами микроорганизмов.

Получено 25.II.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

Абрамова М. М. Сезонная изменчивость некоторых химических свойств лесной подзолистой почвы. Тр. Почв. ин-та им. В. В. Докучаева, 25, 1947.

Кононова М. М. Некоторые дискуссионные вопросы в области почвенной микробиологии. Микробиология, XXIII, вып. 4, 1954.

Лазарев Н. М. Экологическая микробиология и изучение почвенного плодородия. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии ВАСХНИЛ за 1941—1945 гг., вып. 1, 1949.

Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. М.— Л., 1947.

Рыбалкина А. В. и Кононенко Е. В. Непосредственное наблюдение микрофлоры в почве модифицированным методом Холодного. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.

Селибер Г. Л. Определение положения кардинальных точек. Изв. Н.-естеств. ин-та им. П. Ф. Лесгафта, III, 1921.

Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. Микробиология, XXIII, вып. 3, 1954.

О БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРАХ ПОЧВЕННОГО ПЛОДОРОДИЯ

И. А. Геллер

По современным представлениям, под плодородием почвы мы понимаем совокупность ее свойств, обеспечивающих жизненную потребность растений в элементах пищи и воды. Такое понимание сущности почвенного плодородия вытекает из закона, сформулированного В. Р. Вильямсом (1936), о равнозначимости всех элементов жизни растения.

На первых этапах развития науки о почвенном плодородии неоднократно делались попытки свести сущность плодородия почвы к некоторым отдельным свойствам ее. Особое внимание в то время уделялось изучению химических свойств почвы и содержанию в ней удобоусвояемых элементов минерального питания и азота, как главенствующего фактора почвенного плодородия. Это соответствовало тогдашнему уровню развития физиологии растений, которая на основании анализов золы растений и фактов повышения продуктивности растений при внесении в почву минеральных удобрений считала, что растения питаются минеральными солями.

Однако последующие исследования показали, что на этой базе проблема восстановления и дальнейшего повышения плодородия почвы не может решаться полностью. Стало очевидным, что наряду с химическими свойствами почвы имеют важное значение и ее физические, физико-химические и биологические свойства.

Соответственно расширились представления о роли биологических элементов почвенного плодородия.

Если ранее при оценке роли микроорганизмов как элемента почвенного плодородия главное внимание уделялось процессам минерализации органических веществ, в результате которых для растений высвобождаются элементы минерального питания и азот, то теперь стало также необходимым изучить синтетический характер жизнедеятельности почвенных микроорганизмов в процессах образования перегноя, структуры и улучшения физико-химических свойств почвы (Мишустин, 1951).

Можно, конечно, и сейчас абстрагироваться от реального значения физических и физико-химических свойств почвы в развитии ее основного качества — плодородия; тогда на первый план выступает минерализирующая роль почвенных микроорганизмов. Но игнорирование реальной действительности не является действенным способом познания ее.

Ряд фактов неопровержимо доказывает, что при преобладании процессов распада над процессами синтеза неизбежны потери почвенного гумуса со всеми вытекающими отсюда последствиями в отношении физических и физико-химических свойств почвы. В сводке Кононовой (1951) приведены многочисленные примеры потери почвой гумусовых веществ при усилении аэробных микробиальных процессов, и в данном случае повторять их нет надобности. Необходимо, однако, подчеркнуть, что скорость минерализации органических веществ в почве зависит не только от системы агротехнических мероприятий, но не в меньшей мере от почвенно-климатических особенностей различных зон. Так, например, на сероземных почвах в условиях полива потери почвой гумуса за четыре года составляют более 50%, тогда как в зоне недостаточного увлажнения эти потери гумусовых веществ при непрерывном паровании почвы в течение 10 лет составляют всего 10—15%.

Итак, если мы считаем, что развитие основного качества почвы — ее плодородия — зависит не только от динамики элементов минерального питания, тогда необходимо выяснить роль микроорганизмов также в процессах синтеза органического вещества почвы.

Нам поэтому представляется, что основная и главная задача почвенной микробиологии в настоящее время состоит в том, чтобы изучить и разработать практические мероприятия, посредством которых мы в состоянии правильно координировать процессы распада и синтеза органических веществ в почве применительно к потребностям культивируемых растений и в зависимости от почвенно-климатических особенностей различных зон СССР.

Не менее важной и в то же время не менее сложной задачей почвенной микробиологии является изучение непосредственной роли ризосферных микроорганизмов в корневом питании растений.

Многочисленные факты согласованно показывают, что в ризосфере микробиологические процессы протекают более инстенсивно, чем в почве вне ризосферы, и состав микронаселения ризосферы не идентичен у различных видов растений.

Хотя эти факты стали достоянием почвенной микробиологии сравнительно недавно, и многое в этом направлении еще не ясно, тем не менее многие исследователи (Березова, 1953; Доросинский и Лазарев, 1949; Лысенко 1953) считают вполне вероятным, что элементы питания, пройдя через биологически активный слой ризосферы, претерпевают определенные изменения и уже в измененном виде поступают в корни.

Эти положения основаны пока на ограниченном материале и поэтому вызывают ряд возражений (Кононова, 1954; Петербургский, 1954; Ратнер и Колосов, 1954). В частности, возникает вопрос, какова биохимическая сущность преобразования элементов питания в биологически активном слое ризосферы. В какое соединение, например, превращается катион калия или анион фосфорной кислоты, когда они проходят через биологически активный слой ризосферы.

Ведь хорошо известно, что минеральные элементы питания накапливаются в почве в результате минерализующего действия почвенных микроорганизмов. Чем же отличаются минеральные элементы питания и азотные соединения, полученные в промышленности, от тех же соединений, накапливающихся в почве в результате жизнедеятельности почвенных микроорганизмов?

Тем не менее новые положения о регулирующей роли биологически активного слоя ризосферы в питании растений являются прогрессивными, если их рассматривать в качестве рабочей гипотезы — как основы для дальнейшего изучения сущности питания растения в естественных условиях почвы.

Хотя ряд фактов свидетельствуют о том, что растение усваивает минеральные элементы питания в стерильных условиях, тем не менее это не означает, что в естественных условиях почвы питание растений протекает аналогично.

Следует отметить, что в естественных условиях в зоне ризосферы благодаря интенсивному поглощению кислорода корнями растений и микроорганизмами ризосферы имест место более низкое парциальное давление кислорода. В связи с этим, а также в связи с тем, что эта зона обогащается органическими веществами корневых выделений, окислительно-восстановительный потенциал ризосферы ниже, чем в почве вне ризосферы. Поэтому можно считать вполне вероятным, что некоторые элементы питания, в частности нитраты, проходя через ризосферу, могут восстанавливаться в нитриты или даже в аммиачную форму. Тем более, что в зоне ризосферы, как показал ряд исследований (Дараселия, 1950; Елкина, 1949; Федоров и Непомилуев, 1954), денитрифицирующие бактерии развиваются значительно интенсивнее, чем в почве вне ризосферы.

Имеются также основания полагать, что микроорганизмы ризосферы влияют на ход поступления элементов питания в растение.

Корневое питание растения или, иначе говоря, поглощение веществ корнями растений из внешней среды зависит в основном от двух факторов: биологических особенностей растений и условий внешней среды. Притом поглощение веществ корнями растений неразрывно связано с выделением веществ из тканей корня во внешнюю среду. Поглощение веществ корнями растений является только частью общего обмена веществ и энергии между растением и внешней средой. В этом нетрудно убедиться при термодинамическом анализе обмена веществ и энергии при поглощении корнями растений кислорода и некоторых других окисленных соединений из питательного раствора.

Корни растений, как это давно было экспериментально доказано Кудрявцевой (1924), в стерильных условиях интенсивно поглощают растворенный в питательной смеси кислород. В результате такого поглощения, как показали наши исследования, резко понижается окислительно-восстановительный потенциал питательного раствора, а также потенциал ризосферы (Геллер, 1953).

Понижение окислительно-восстановительного потенциала раствора означает, что свободная энергия раствора повысилась, т. е. поглощение кислорода корнями неразрывно связано с повышением свободной энергии раствора за счет, конечно, растения. Таким образом, даже обычное поглощение кислорода из раствора корнями растения не является по своей природе односторонним актом, оно неразрывно связано с выделением веществ и энергии из тканей растения во внешнюю среду.

Аналогичные явления имеют место при поглощении некоторых окисленных элементов (нитратов). Поглощение их из раствора ведет к понижению окислительно-восстановительного потенциала раствора, т. е. к повышению свободной энергии раствора за счет веществ, выделяемых корнями растений.

Следовательно, поглощение кислорода и некоторых других окисленных соединений корнями растений неизбежно связано с выделением из тканей корня во внешнюю среду веществ, которые используются микроорганизмами, обитающими в ризосфере растения. Выделение веществ корнями растений не является каким-то случайным, привходящим обстоятельством. Оно неразрывно связано с поглощением веществ из окружающей среды, т. е. с питанием растения, без которого жизнь растительного организма становится невозможной.

Итак, в нормальных условиях питания растения выделяют во внешнюю среду богатые энергией соединения, которые используются микроорганизмами ризосферы.

Есть основание поставить вопрос так: одинаково ли протекают процессы поглощения элементов питания в условиях, когда корневые выделения накапливаются во внешнем растворе (в стерильных условиях), и в условиях, когда корневые выделения используются микроорганизмами ризосферы?

Надо полагать, что неодинаково, так как по мере повышения концентрации выделяемых веществ во внешнем растворе (в стерильных условиях) и выравнивания их концентрации во внешнем питательном растворе и в клетках корня процесс выделения затормаживается, что было отмечено давно Костычевым (1933) и подтверждено нашими исследованиями (Геллер, 1954).

Следовательно, при использовании корневых выделений микроорганизмами ризосферы создаются условия, при которых процессы выделения органических соединений корнями растений протекают более интенсивно, и поскольку выделение веществ неразрывно связано с поглощением минеральных соединений, то тем самым микроорганизмы ризосферы в целом улучшают условия питания, способствуют более интенсив-

ному поступлению элементов питания в растение, что подтверждается экспериментально.

Так, опытами Ратнера и Колосова (1954) показано, что в водных культурах в нестерильных условиях поступление азота в ткани корня кукурузы усиливается. В стерильных условиях смена питательного раствора в известной мере выполняет одну из функций микроорганизмов ризосферы.

Исследования Демиденко (1928) показали, что периодическая смена питательного раствора при выращивании культуры в стерильных условиях резко повышает количество корневых выделений и продуктивность растения. В его опытах с культурами табака и кукурузы смена питательного раствора была произведена шесть раз на протяжении вегетационного периода, и это привело к увеличению корневых выделений у табака в три раза, а кукурузы в четыре раза по сравнению с бессменной культурой. При этом продуктивность растений в сменных растворах была значительно выше, чем в бессменных питательных смесях.

Аналогичные результаты были получены Мешковым (1950) в стерильных опытах с горохом и кукурузой.

В естественных условиях почвы корневые выделения утилизируются микроорганизмами ризосферы непрерывно, и для того, чтобы в какой-то мере приблизиться к этим условиям в стерильном опыте, надо его поставить в условиях непрерывного обновления питательного раствора.

Однако это вовсе не означает, что абсолютно все виды микроорганизмов, встречающиеся в ризосфере, будут действовать на растение идентично. Ведь помимо поглощения корневых выделений микроорганизмами в процессе обмена веществ последние выделяют органические и минеральные соединения, которые могут поглощаться корнями растений, что было показано исследованиями Красильникова (1952), Шавловского (1953). Красильников правильно рассматривает это явление как дополнительный источник питания растения, ибо пока нет достаточных оснований отнести высшие культурные растения к гетеротрофным организмам.

Нет также оснований утверждать, что продукты обмена веществ различных видов ризосферных микроорганизмов идентичны, и поэтому их действие как дополнительного источника питания растения также различно.

Следовательно, одна из главных задач почвенной микробиологии состоит в том, чтобы изучить и разработать практические мероприятия, посредством которых мы можем регулировать состав микронаселения ризосферы, насытив ее теми видами, продукты жизнедеятельности которых способствуют росту и продуктивности растения.

Практически эта задача в настоящее время решается путем применения бактериальных удобрений (азотобактерин, фосфоробактерин и др.). Обрабатывая семена культурных растений или корни посадочного материала бактериальными удобрениями, мы в той или иной мере изменяем состав и характер жизнедеятельности микроорганизмов ризосферы, а также почвы вне ризосферы. Применение бактериальных удобрений является по существу логическим следствием из наших представлений о роли тех или иных микроорганизмов в круговороте веществ в почве и в питании растения.

Естественно, чем детальнее изучены указанные закономерности, тем с большим успехом бактериальные удобрения будут применяться в целях повышения урожая и улучшения качества продукции сельскохозяйственных культур. Практические успехи в области более эффективного использования бактериальных удобрений неразрывно связаны с развитием почвенной микробиологии в целом.

Худяков (1954) правильно отмечает необходимость дальнейшего, более детального изучения сущности действия бактериальных удобрений.

Нам хотелось бы в связи с этим подчеркнуть следующее:

В любой науке наиболее достоверные результаты получаются при сочетании аналитических и синтетических методов. Это положение верно и по отношению к почвенной микробиологии. Познание роли микронаселения почвы в развитии основного качества почвы — плодородия и в питании растения не исчерпывается анализом состава и динамики микрофлоры почвы и ризосферы. Необходимо также изучить ход и характер изменения почвенных процессов и реакцию высших растений при обогащении почвы различными видами микроорганизмов, или, иначе говоря, при применении бактериальных удобрений.

В настоящее время в области почвенной микробиологии имеет место тенденция противопоставления вопроса изучения состава микронаселения почвы вопросу практического применения бактериальных удобрений. Эта тенденция выражается хотя бы в том, что на всех микробиологических совещаниях указанные вопросы обсуждаются раздельно. В результате такого искусственного разрыва возникают предложения разрабатывать как отдельный вопрос теорию применения бактериальных удобрений. В агрохимии такое предложение выглядело бы примерно так: теория динамики элементов питания растений в почве и теория внесения минеральных удобрений в почву.

Нам кажется, что такое противопоставление возникло в области почвенной микробиологии вследствие недооценки теоретической значимости синтетического способа познания роли микроорганизмов.

Наряду с применением бактериальных удобрений имеются и иные возможности регулировать состав и характер жизнедеятельности микроорганизмов почвы и ризосферы растения, а именно путем обработки почвы, чередованием культур в севообороте, внесением органических и минеральных удобрений.

Все эти мероприятия давно разрабатываются полеводами, агрохимиками, но они очень слабо изучены в микробиологическом отношении. Поэтому об эффективности тех или иных мероприятий чаще всего судят по данным урожая, с учетом некоторых свойств почвы, главным образом физических и химических, реже физико-химических.

Необходимо поэтому преодолеть имеющееся отставание в области микробиологических исследований при изучении мероприятий по обработке почвы, применению органических и минеральных удобрений и т. д., ибо эти исследования крайне необходимы для научного обоснования системы агрономических приемов по возделыванию сельскохозяйственных культур. Без этой черновой работы, как нам представляется, вряд ли возможна практическая реализация теоретических выводов о роли почвенного микронаселения в процессах восстановления и повышения плодородия почвы и в питании растений.

Подводя итоги изложенному, следует отметить, что основными проблемами в области почвенной микробиологии являются:

1. Регулирование процессов минерализации и синтеза органических веществ в почве в целях улучшения питательного режима почвы и ее физических и физико-химических свойств применительно к особенностям культурных растений и в зависимости от почвенно-климатических особенностей различных зон СССР.

Практическое решение этого вопроса должно сочетаться с изучением регулирующего действия отдельных агротехнических мероприятий на микробиальные процессы почвы с тем, чтобы общетеоретические выводы могли практически реализоваться в сельскохозяйственном производстве. Эти исследования должны проводиться почвенными микробиологами совместно с работниками смежных областей агрономии (полеводами, агрохимиками и др.).

2. Изучение роли микроорганизмов ризосферы в корневом питании растений.

Этот вопрос должен решаться не только специфическими приемами почвенной микробиологии, но должны привлекаться и другие методы исследований, учитывая, что этот вопрос по существу является составной частью более общей проблемы — обмена веществ между растением и почвой.

В заключение нам кажется целесообразным обратить внимание на некоторые методические и методологические вопросы современной почвенной микробиологии.

Совершенно правильно указывают Худяков (1954) и Доросинский (1954) на недопустимость автоматического перенесения представлений о поведении микроорганизмов в чистых культурах на почву. Это положение и ранее подчеркивалось, и оно означает прежде всего то, что почва по многим своим свойствам резко отличается от питательной среды.

Известно, что почва крайне неоднородна, в ней имеются резко отличные микрозоны. Кроме того, многие свойства почвы резко изменяются даже в течение одного вегетационного периода. Естественно, что отразить более или менее объективно протекающие в почве процессы довольно трудно.

Совершенно очевидно, что методы лабораторных исследований крайне необходимы, но они должны сочетаться с изучением того или иного вопроса в полевой обстановке.

Результативность исследований в значительной мере зависит не только от самой методики, но также от творческого умения использовать различные методы, при помощи которых можно приблизить условия в искусственных средах к условиям почвы. Для этого необходимо микробиологические исследования сочетать с изучением физических, химических и физико-химических свойств почвы, а также с другими методами изучения почвы, применяемыми в смежных разделах — почвоведении и агрохимии.

Мы считаем, что открытая по инициативе редакции журнала «Микробиология» дискуссия по вопросам о современном состоянии и основным задачам почвенной микробиологии принесет положительные результаты. Широкий обмен мнениями безусловно будет стимулировать расширение и углубление экспериментальных исследований в этой области, будет способствовать привлечению новых сил и творческой разработке новых мероприятий по повышению урожайности всех сельскохозяйственных культур.

Получено 1.II.1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

Березова Е. Ф. О роли микроорганизмов в питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», Сельхозгиз, 1953.
Вильямс В. Р. Почвоведение. Сельхозгиз, 1936.
Геллер И. А. О влиянии растения на окислительно-восстановительный потенциал почвы. ДАН СССР, LXXXIX, № 3, 1953.
Геллер И. А. О корневых выделениях растений. ДАН СССР, ХСУ, № 5, 1954.
Дараселия Н. А. Микрофлора ризосферы чайного куста. Бюлл. Всес. ин-та чая и субтропических культур, № 3, 42, 1950.
Демиденко Т. Т. Используют ли высшие растения атмосферный азот при содействии Azotobacter'a и Clostridium'a Pasteurianum? Научно-агроном. журн., № 7-8, 528, 1928.
Доросинский Л. М. О некоторых дискуссионных вопросах почвенной микробиологии. Микробиология, XXIII, 600, 1954.
Доросинский Л. М. и Лазарев Н. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Агробиология, № 4, 1949.
Елкина О. Г. Денитрификаторы лугово-болотных почв Средней Азии. Бюлл. Ср.-Аз. гос. ун-та, вып. 28, 89, 1949
Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения Изд-во АН СССР, М., 1951.
Кононова М. М. Некоторые дискуссионные вопросы в области почвенной микробиологии. Микробиология, XXIII, 485, 1954.
Костычев С. П. Физиология растений, ч. II, стр. 112. Огиз, 1933.
Красильников Н. А. Роль микроорганизмов в дополнительном питании растений Усп. совр. биологии, XXX, 321, 1952.

Кудрявцева А. А. Потребность корней растений в кислороде. Научно-агроном. журн., № 1, 48, 1924.
Лысенко Т. Д. Задачи науки о почвенном питании растений в повышении урожайности сельскохозяйственных культур. Земледелие, № 5, 1953.
Мешков Н. А. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие азотобактера и некоторых других почвенных микробов. Микробиология, XIX, вып. 2, 1950.
Мишустин Е. Н. Почвенная микробиология и ее основные задачи. Тр. Ин-та микробиологии, вып. 1, 1951.
Петербургский А. В. Некоторые вопросы корневого питания растений. Почвоведение, № 8, 65, 1954.
Ратнер Е. И. и Колосов Н. И. Корневое питание растений и новые методы его исследования. Природа, № 10, 28, 1954.
Федоров М. В. и Непомилуев В. Ф. Основные формы ризосферных бактерий тимофеевки (Phleum pratense) и изменения количества их клеток в ризосфере по фазам развития и годам жизни этого растения. Микробиология, XXIII, 166, 1954.
Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. Микробиология, XXIII, 331, 1954.
Шавловский Г. М. Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений органическими соединениями серы. ДАН СССР, XCI, 213, 1953.

ОБЗОРЫ

О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН НА МИКРООРГАНИЗМЫ

И. Е. Эльпинер

Проблема бактерицидного действия ультразвуковых колебаний обсуждалась на страницах настоящего журнала в 1952 г. (Эльпинер). За последние два года накопились новые факты и сообщения, подлежащие вновь систематизации и анализу.

Актуальным остается вопрос об избирательном действии ультразвуковых волн на микроорганизмы. Еще в ранних работах, посвященных бактерицидному действию ультраакустических колебаний, мы находим указания на различную чувствительность к ультразвуку разных видов и штаммов патогенных и непатогенных бактерий (Grabar et Royer, 1945; Stumpf, Green a. Smith, 1946; Блинкин, Гордина, Полоцкий и Уразовский, 1946; Доливо-Добровольский и Кузнецов, 1943; Эльпинер и Шейнкер, 1946; Рубан, 1953; Скард, 1953; Скард и Строд, 1953). В основном, по мнению исследователей, избирательность бактерицидного действия ультразвука обусловлена морфологическими особенностями и функциональным состоянием изучаемых микроорганизмов. Исключительная роль отводится структуре и строению клеточных оболочек, разрушение которых под действием ультразвуковых волн предшествует полной дезинтеграции микробных тел. Не меньшее значение в учении об избирательном действии ультразвука приписывается размерам и форме испытуемых микроорганизмов. И действительно, крайне чувствительны к ультразвуку нитевидные формы микроорганизмов, менее чувствительны — палочковидные, весьма устойчивы стафило- и стрептококки, если судить по способности озвученной культуры давать рост при последующем посеве (Warnecke, 1953). По данным Хессельберга (Hesselberg, 1952), палочковидные бактерии обладают большей чувствительностью к ультразвуку, чем кокки. Малыми размерами озвучиваемых частиц объясняют Беквит и Вифер (Beckwith a. Weaver, 1936) большую резистентность в поле ультраакустических колебаний бактериофага Salmonella paratyphosum B. По этой же причине, по мнению авторов, не теряют своей активности под действием ультразвука антитела и антидизентерийная агглютинирующая сыворотка.

По нашим наблюдениям, проведенным совместно с Медведевой, чрезвычайно легко разрушаются в поле ультразвуковых волн эндомицеты (Endomyces magnusii), имеющие в длину 40—35 μ. Наиболее устойчивы в этом отношении сахаромицеты (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoideus и Saccharomyces glocosus), размеры которых составляют 8×5 μ. Промежуточное положение занимает Saccharomyces ludwigii, обладающий размерами 20×5 μ. О большой устойчивости к ультразвуку Saccharomyces cerevisiae сообщают Кацнельсон и Хенох (1950).

По сообщению Казелитца (Caselitz, 1951), жгутиковый аппарат Salmonella typhosa значительно быстрее повреждается, чем тело этого микроба. К аналогичному выводу приходит и Кнапп (Knapp, 1952). По его наблюдениям, в первые минуты озвучивания тифозные палочки и Bact. proteus теряют способность к агглютинации в присутствии Н-сыворотки, что сви-

детельствует о механическом разрушении жгутикового аппарата этих бактерий. При более продолжительном озвучивании разрушаются и антигены тифозной палочки, связанные с телом микроба (потеря способности к О-агглютинации).

Однако имеются определенные данные, показывающие, что чувствительность к ультразвуку не всегда определяется размерами озвучиваемых микроорганизмов и отдельных его составных частей. По данным Варнеке (Warnecke, 1953), одни штаммы Paratyphus B. весьма чувствительны к ультразвуку, а другие, наоборот, резистентны к действию этого физического агента. По его же сообщению, разные типы дифтерийной палочки, обладающие одинаковыми размерами, отличаются между собой по своему поведению в поле ультразвуковых волн. Более быстро повреждается тип митис, менее быстро — гравис, промежуточное положение занимает тип интермедиус. При этом тип гравис остается токсичным, а тип митис и тип интермедиус даже при менее длительном озвучивании теряют свои вирулентные свойства. После озвучивания тип гравис оказался неспособным сбраживать крахмал, а тип интермедиус и тип митис потеряли способность окислять декстрозу. Изменения биохимических особенностей дифтерийной палочки обнаружены при такой продолжительности озвучивания, когда не наблюдается еще гибели микробов; при последующем посеве они дают пышный рост, не отличающийся от роста контрольных микроорганизмов. Стало быть повреждающее действие ультразвука не сводится только к грубому разрушению клеточных структур, выявляемому цитологическими методами исследования, но возможны изменения функционального состояния бактерий.

В этом аспекте представляют интерес следующие наблюдения. Известно, что пенициллин вызывает ветвление у клеток B. coli и появление выпячиваний в местах их деления. Под действием ультразвука указанные морфологические изменения в присутствии пенициллина становятся более массивными. Наряду с этим ультразвук вызывает дислокацию ядер и хроматиновых структур (электронно-микроскопические исследования — Zapf, 1953). По данным автора, морфологические отклонения, вызываемые совместным действием пенициллина и ультразвука, наследственно не закрепляются. Усиление действия пенициллина на микроорганизмы, обнаруженное под влиянием ультраакустических колебаний, автор объясняет изменением проницаемости клеточных оболочек и нарушением внутриклеточных структур — явления, характерные для действия названного физического агента (Эльпинер, 1954). При определенных условиях озвучивания, при низких концентрациях пенициллина и в соответствующей благоприятной среде описываемые морфологические изменения носят обратимый характер, а рост и деление клеток сохраняют нормальный вид.

Как сказано, большую чувствительность к ультразвуковым волнам у Staphylococcus aureus haemoliticus и Streptococcus haemoliticus наблюдал Варнеке. Эти микроорганизмы не погибали после двухчасового озвучивания (интенсивность ультразвука — 5 ватт/см^2, частота колебаний — 800 кгц). Однако у этих микроорганизмов даже при менее продолжительном озвучивании (10 минут) наблюдалось повышение чувствительности к действию пенициллина. Из 32 пенициллиночувствительных штаммов стафилококка и стрептококка в 28 случаях автор обнаружил после озвучивания повышенную чувствительность к этому антибиотику; достаточно было прибавить незначительные количества пенициллина, чтобы остановить рост микробов. Автору не удалось при помощи ультразвука перевести пенициллиноустойчивые штаммы в пенициллиночувствительные.

Представляет интерес, что озвученные культуры сохраняют повышенную чувствительность к пенициллину при их введении в организм. Однако при последующем пассаже они теряют повышенную чувствительность к антибиотику и не проявляют в этом отношении отличия от контрольных неозвученных штаммов.

Кстати укажем, что, по наблюдениям названного автора, озвученный пенициллин становится более активным.

На основании своих исследований Варнеке приходит к заключению о правомерности существующих в литературе представлений, что пенициллиночувствительность микроба обусловлена наличием у него специфических рецепторов, взаимодействующих с данным антибиотиком. Таким образом, следует понять, что ультразвук как бы «обнажает», делает более доступными существующие рецепторы, чем и объясняется, повидимому, согласно мнению автора, повышение чувствительности микроорганизмов к действию пенициллина. Не останавливаясь на дискуссии этого вопроса, отметим лишь, что такое предположение предусматривает влияние ультразвука на молекулярные комплексы, входящие в состав микроорганизма и его отдельных элементарных частей.

О возможном влиянии ультразвука на внутриклеточные молекулярные комплексы свидетельствуют полученные нами экспериментальные данные (Опарин, Гельман и Эльпинер, 1954). Ультразвуковые волны были нами использованы для изучения локализации ферментов в дрожжевой клетке. Известно, что от локализации ферментов в клетке в значительной степени зависят активность и направленность действия последних. Под действием ультразвуковых волн легко разрываются дрожжеподобные клетки (Endomyces magnusii), что позволяет отделить содержимое протоплазмы от оболочек. Последнее создает благоприятные условия для определения в отдельности наличия ферментов в протоплазменной фракции и в оболочках. Таким путем удалось показать, что дегидразы являются цитоплазматическими ферментами, инвертаза тесно связана со структурами оболочки, а цитохромоксидаза вовсе не обнаруживается, что говорит о легко наступающей инактивации этого фермента в поле ультразвуковых волн. Важно другое. Оказалось, что активность фермента инвертазы в озвученных препаратах Endomyces magnusii увеличивается во много раз по сравнению с активностью данного фермента, установленной Опариным и Юркевичем (1949) в интактных клетках названной дрожжевой культуры. Даже после продолжительного автолиза интактных клеток не наблюдали увеличения активности инвертазы.

Дальнейшие исследования (Опарин, Гельман и Эльпинер, 1954а) показали, что в результате действия ультразвуковых волн инвертаза обнаруживается и в клетках Saccharomyces globosus 349, которые, по данным Юркевича, вовсе не содержат этого фермента. Только при предварительном выращивании на сахарозе они приобретают способность сбраживать последнюю (Косиков, 1954). Проявление активности фермента после воздействия ультразвуковыми волнами позволяет считать, что инвертаза находится в интактных клетках Saccharomyces globosus и Endomyces magnusii в ином состоянии, чем предполагалось раньше. Следует подчеркнуть, что инвертаза в Saccharomyces globosus обнаруживается после такого воздействия ультразвуковых волн, которое не сопровождается разрывом и гибелью клеток. Дыхание озвученных клеток практически не снижается по сравнению с контрольными клетками.

Итак, действие ультразвуковых волн на микроорганизмы носит более разнообразный характер, чем было установлено предыдущими исследованиями. Параллельно с этим усложнились представления о механизме биологического действия ультразвуковых волн.

В первую очередь следует отметить, что описанные выше явления не связаны с образованием тепла вследствие поглощения ультразвуковой энергии средой. Температура в данных случаях играет, повидимому, второстепенную роль. Влияние тепла легко элиминируется проведением эксперимента при условии беспрерывного охлаждения озвучиваемой бактериальной суспензии, что обычно выполняется почти всеми исследователями. Все же, согласно данным ряда авторов, выживаемость микроорганизмов в значительной степени зависит от температуры озвучиваемой

среды. Так, при температуре водной среды в 6° выживаемость озвучиваемой культуры Bact. prodigiosum (интенсивность ультразвука 4,5 ватт/см², число колебаний — 800 кгц, продолжительность действия — 20 минут) составляла 50%, при температуре в 20° — 15%, а при температуре в 40° — 2% (Füchtbauer u. Thesmann, 1949). По данным Фельтмана и Вёбера (Veltman u. Woeber, 1949), при повышении температуры бактериальной суспензии от 10 до 37° разрушительное действие ультразвука на Gonococcus intracellularis увеличивается в пять раз. По предположению авторов, повышение бактерицидного действия ультразвука в данных случаях определяется усилением процесса кавитации, обусловливающим гибель микроорганизмов.

При повышении температуры среды образование кавитационных пузырьков значительно облегчается вследствие «разрыхления» межмолекулярных связей, с чем связан более легкий разрыв жидкости. Напомним, что распространение звуковых волн сопровождается периодическим сжатием и разрежением среды. При прохождении интенсивных ультразвуковых волн через жидкость в местах разрежения (отрицательные давления) может произойти разрыв сплошности данной жидкости с образованием полого пространства (явления кавитации). Образовавшаяся полость заполняется парами жидкости. В эту же полость диффундируют растворенные в жидкости газы. При внезапном сжатии кавитационного пузырька в жидкости вблизи его поверхности возникают огромные давления порядка десятков тысяч атмосфер. Аннигиляция («захлопывание») кавитационных пузырьков также сопровождается освобождением значительного количества энергии.

Интенсивность ультразвука, необходимая для образования кавитации, составляет 0,3—0,5 ватт/см² поверхности вибратора. При такой интенсивности ультразвука начинает выявляться бактерицидный эффект. Чем выше интенсивность ультразвуковых волн, тем больше выражены кавитационные явления, тем сильнее бактерицидное действие. Увеличение интенсивности оказывается в этом отношении более эффективным, чем удлинение времени озвучивания (Veltman u. Woeber, 1949). Все мероприятия, угнетающие процесс кавитации, снижают бактерицидный эффект ультразвука. К ним относится увеличение вязкости среды. Чем выше вязкость среды, тем больше должна быть интенсивность ультразвука, обусловливающая возникновение кавитационных полостей.

Угнетение кавитации может быть также достигнуто путем наложения больших внешних давлений (4—5 атмосфер), препятствующих разрыву сплошности озвучиваемой жидкости. Это объясняется тем, что кавитация в жидкости легче возникает там, где находятся микропузырьки газа. При высоком гидростатическом давлении, т. е. при условии, приводящем к уничтожению газовых пузырьков, вода, например, может быть нагрета до 200° без признаков, характеризующих кипение. При этих же условиях сплошность воды не нарушается, если внутри жидкости возникают отрицательные давления даже в несколько десятков атмосфер.

Естественно ожидать, что насыщение озвучиваемой жидкости тем или иным газом при атмосферном давлении должно привести к обратному эффекту, т. е. к более легкому образованию кавитации. Под этим углом зрения становятся понятными наблюдения Грюна и Штельтера (Grün u. Stelter, 1954). Авторы не наблюдали бактерицидного эффекта при озвучивании Bact. anthracoides в обычных условиях (интенсивность ультразвука — 5 ватт/см², частота колебаний — 800 кгц). Он выявлялся тогда, когда озвучиваемая жидкость предварительно насыщалась углекислым газом, азотом, кислородом или воздухом. Представляет интерес, что усиление бактерицидного действия ультразвука не зависит, по данным авторов, от того, каким газом насыщалась водная суспензия микроорганизмов. От природы газа зависит характер ультразвуковых химических процессов, возникновение которых также обусловлено кавитацией (Эльпинер и Ко-

лесникова, 1950; Эльпинер, Блюменфельд и Красовицкая, 1951). Это означает, что в данном случае гибель бактерий, повидимому, вызывается не химическими процессами, имеющими место в озвучиваемой водной среде. Об этом будет сказано ниже.

Разрушительное биологическое действие ультразвука определяется механическими силами, связанными с образованием и захлопыванием кавитационных пузырьков. Значение приобретает здесь расстояние биологического объекта от образовавшегося пузырька газа. Чем ближе к микроорганизму расположены кавитационные полости, тем больше интенсивность ударной волны, возникающей в результате образования и аннигиляции газового пузырька. По данным Гольдмана и Лепешкина (Goldmann a. Lepeschkin, 1952), летальный эффект уменьшается обратно пропорционально квадрату расстояния биологического объекта от места разрыва пузырька. Ударная волна в этих случаях проявляет свое действие на расстоянии нескольких микрон.

Имеются указания, что чувствительны к ультразвуку те микроорганизмы, структура оболочек которых обладает особенностями, благоприятствующими возникновению кавитации в непосредственной близости к поверхности микроба. Эти представления заимствованы из соседних областей знания и привлекают внимание, поскольку открывают новые возможности управления процессами кавитации.

Отсутствие газовых зародышевых пузырьков не является еще достаточным, чтобы затруднялась кавитация в водной среде. Кавитация в подобных случаях возникает при нанесении на стенки сосуда таких органических веществ, которые придают ей гидрофобный характер. Это приводит к уменьшению прочности жидкой фазы на границе раздела вода — стекло, чем и облегчается кавитация (Корнфельд, 1951).

Кавитация легко возникает при нанесении на внутреннюю поверхность стеклянного сосуда мономолекулярного слоя стеарата натрия. На поверхности стекла молекулы стеарата натрия ориентируются таким образом, что полярные группы прикрепляются к поверхности стекла, а неполярные гидрофобные части молекулы направляются в сторону водной фазы. Слабое взаимодействие полярных молекул воды с неполярными группами молекул стеарата натрия облегчает возможность разрыва жидкости на границе стекло — вода.

Дополнительное введение других веществ может придать поверхности сосуда и гидрофильный характер, если неполярные группы молекулы вводимого вещества взаимодействуют с неполярными группами стеарата натрия, а полярные гидрофильные их группы ориентированы в сторону водной фазы. К таким веществам относятся желатин, яичный альбумин, аминокислоты и др.

Исходя из этих представлений, Хортон (Horton, 1953) считает, что избирательность действия ультразвука на бактерий определяется степенью гидрофобности их оболочек. Гидрофобный характер поверхностного слоя оболочки способствует возникновению кавитационных пузырьков на границе вода — микроб, чем обуславливается быстрая их гибель в поле ультразвуковых волн. Наличие поверхностно активных примесей в бактериальной водной суспензии, приводящих к снижению степени гидрофобности их оболочек, уменьшает скорость гибели бактерий под действием ультразвука. Уменьшение скорости гибели E. coli в поле ультраакустических колебаний автор наблюдал при прибавлении к бактериальной суспензии *l*-лейцина, который, по его мнению, адсорбируясь на поверхности микроба, придает ей гидрофильный характер; тем самым затрудняется кавитация вблизи бактериальной клетки.

Большинство бактерий, помещенных на границе раздела масло — вода, втягивается в водную фазу — результат проявления сил взаимного притяжения между молекулами воды и молекулами, ориентированными на поверхности микроорганизма. Некоторые микобактерии (Mycobacteri-

um phlei), окруженные довольно массивной восковидной капсулой, наоборот, проявляют тенденцию двигаться в сторону масла, что отражает гидрофобный характер наружной поверхности данной капсулы; на поверхности последней кавитация должна быть резко выражена. Тем не менее, по данным автора, микобактерии устойчивы в поле ультразвуковых волн. Автор склонен считать, что наличие восковидной оболочки защищает микроб от действия ударной волны.

Зависимость бактерицидного эффекта ультразвука от состава суспензионной жидкости установлена рядом исследователей. По данным Грюна и Штельтера (Grün u. Stelter, 1954), под действием ультразвука легко разрушаются бактерии (Bact. prodigiosum) в 0,9%-ном растворе хлористого натра. Эти же бактерии становятся крайне устойчивыми в молоке.

Снижение бактерицидного действия ультразвука в молоке наблюдали Беквит и Февер (Beckwith a. Weaver, 1936). По их сообщению, защитное действие молока выражено тем более, чем больше в нем содержится протеина. Бактерицидность действия ультразвука больше снижает белок, чем липоиды и углеводы.

Полное разрушение гонококков также зависит от состава озвучиваемой среды. Гибель названных микроорганизмов наступает в бидестиллированной воде в течение 4—5 минут, в физиологическом растворе — в течение 5—6 минут, в сыворотке крови — в течение 10 минут, а в бульоне с пептоном — в течение 40—50 минут. Можно привести и другие примеры. В присутствии желатина задерживается гемолиз эритроцитов, вызываемый ультразвуком (Harvey, 1930). Гемолиз эритроцитов более медленно протекает в озвучиваемом изотоническом сахарном растворе, чем в солевом (Cerny, Liechti u. Wilbrandt, 1942). Гемолиз также не наступает в присутствии даже следов таких поверхностноактивных веществ, как желчные кислоты.

Присутствие посторонних веществ в озвучиваемой жидкости не только влияет на бактерицидный эффект, но и отражается на скорости инактивации ферментов и на ряде других химических процессов, протекающих в поле ультраакустических волн. Последнее привело к иным представлениям в учении о механизме защитного действия перечисленных выше веществ. Эти представления непосредственно вытекают из существующих теоретических высказываний о кавитационном электрохимическом действии ультразвуковых волн. Согласно этой теории, в озвучиваемой водной среде, вследствие возникновения в кавитационных полостях больших электрических напряжений, появляются свободные гидроксильные радикалы и атомарный водород — продукты расщепления ионизированных молекул воды ($H_2O + e \rightarrow H_2O^-$; $H_2O^- \rightarrow H + OH^-$; $H_2O - e \rightarrow H_2O^+$; $H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH$).

Ионизация молекул воды осуществляется в кавитационной полости, куда она проникает в газообразном состоянии в первоначальный период возникновения пузырька (Эльпинер, 1954). Есть основание думать, что появление столь активных в химическом отношении продуктов расщепления ионизированных молекул воды обусловливает распад аминокислот и белка, деполимеризацию нуклеиновых кислот, инактивацию ферментов, расщепление пуриновых соединений и других биологически активных веществ (Эльпинер и Герасимова, 1952). Эти процессы легко угнетаются путем введения в озвучиваемый водный раствор таких веществ, которые обладают большим химическим сродством к свободным гидроксильным радикалам или атомарному водороду (Эльпинер и Кац, 1952; Эльпинер и Сурова, 1953). Более того, подбором определенных веществ или газов удается задержать или усилить те или иные химические реакции. В присутствии воздуха быстро инактивируются в поле ультразвуковых волн водные растворы очищенной полифенолоксидазы (тирозиназа). Водород, наоборот, снижает в данном случае инактивирующее действие этого физического агента (Crabar, Voinovitch et Prudhomme, 1949). Различным химическим реакциям подвергаются под действием ультразвука порфири-

новые соединения в зависимости от того, насыщен ли раствор этого вещества кислородом или водородом (Эльпинер, Блюменфельд и Красовицкая, 1951). Угнетают процессы окисления в поле ультразвуковых волн ряд аминокислот (лейцин, метионин, триптофан, эфиры, спирты и другие органические соединения, взаимодействующие, в свою очередь, с продуктами расщепления молекул воды — защитное или конкурирующее действие (Эльпинер, 1954).

В последнее время нами было показано, что некоторые вводимые посторонние вещества, подвергаясь распаду под действием ультразвука, сами становятся источником активных радикалов или атомов, что приводит к значительному усилению химических реакций, протекающих в озвучиваемой водной среде.

Таково поведение четыреххлористого углерода, который становится в поле ультразвуковых волн источником атомарного хлора. В присутствии даже следов этого соединения значительно усиливается распад углеводов и белковых молекул под действием ультразвуковых колебаний (Эльпинер и Сурова, 1953 и 1954). В присутствии четыреххлористого углерода также усиливается инактивация фермента инвертазы, весьма устойчивой в обычных условиях озвучивания (Опарин, Бардинская и Эльпинер, 1954). По данным названных авторов, усиление инактивации этого фермента наблюдается и в присутствии иодистого калия, окисляющегося под действием ультразвука с образованием атомарного иода. Однако усиления инактивирующего действия иодистого калия и четыреххлористого углерода не наблюдается, если в озвучиваемом растворе присутствует альбумин, легко блокирующий атомарный иод и атомарный хлор. Выявление такого механизма подавления и усиления химических процессов значительно расширяет наши представления о характере процессов, вызываемых ультразвуком в водной среде, окружающей бактериальную массу. Наряду с механическими силами, порождаемыми кавитацией для бактерицидного эффекта, повидимому, велико значение и химических процессов, развивающихся в результате кавитационного электрохимического действия ультразвука.

Имеют ли место электрохимические процессы, вызываемые ультразвуковыми волнами, в озвучиваемых бактериальных клетках? Иными словами, возникает ли кавитация внутри бактериальной клетки или кавитационные полости образуются только в окружающей бактерии, обычно водной, среде?

В литературе мы не находим сообщений, указывающих на возможность возникновения кавитации внутри животных или растительных клеток. Отсутствие кавитации связывают с большой вязкостью цитоплазмы.

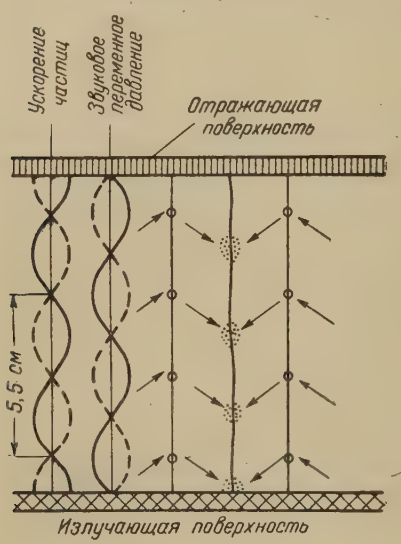
Мало вероятны предположения Луазелера (Loiseleur, 1945), что растворенный в микроорганизме кислород под влиянием ультразвука образует микропузырьки — кавитационные полости, в результате чего возникают химические процессы — деполимеризация белковых частиц и т. д. Приводимый им расчет показывает, что различные части микроорганизма, имеющего в длину 3 μ, могут оказаться в поле ультразвуковых волн одновременно под различным давлением. Градиент давления, по расчетам автора, при определенных условиях может достигнуть внутри микроба 10 атмосфер на 1 мм, что является, по его мнению, достаточным для образования кавитации. Однако размер микроба настолько мал, что указанный градиент давления развивает по длине микроба силу в 30—40 г. Такая сила, по нашему мнению, недостаточна для механического разрыва.

Для объяснения возможных внутриклеточных сдвигов (обратимого и необратимого характера) необходимо учитывать другие физические явления, возникающие в среде распространения ультразвуковых волн.

Биологическое действие ультразвука интимно связывают с переменным акустическим давлением или с силами, развивающимися вследствие больших ускорений частиц в озвучиваемой среде. При дозах 0,5—

5,0 ватт/см^2 и частоте колебаний 1 000 000 гц, обычно используемых в лабораторной практике, ускорение элементарных частиц среды в 100 000 раз больше, чем ускорение, вызываемое земным притяжением. Различия в давлении на расстоянии половины длины волны (около 0,5 мм) равняются нескольким атмосферам. Эти механические силы меняют направление на обратное с частотой ультразвуковых волн: в данном случае миллион раз в секунду.

В случае стоячей волны в течение одного периода упругого механического колебания (звукового) ускорение частиц в два раза увеличивается от нуля (узел ускорения) до максимального значения (пучность ускорения). За этот же период переменное звуковое давление меняется два раза от нуля (узел давления) до ± максимального значения (пучность давления).



При определенных условных оба компонента действия ультразвука могут быть изучены изолированно. В стоячих волнах пучность давления находится на расстоянии $^1/_4$ длины волны от пучности ускорения. Если частота ультразвуковых колебаний составляет, скажем, 30 кгц, то длина волны в воде будет равняться 5,5 см (скорость распространения ультразвука в воде ≈ 1500 м/сек). Это позволяет одновременно или в отдельности подвергать биологические объекты действию ультразвука в области пучности давления или пучности ускорения.

Получение стоячих волн в основном очень просто. Стоячие волны образуются в тех случаях, когда отражающая стенка находится от источника ультразвука на расстоянии $n\frac{\lambda}{2}$ (n — целое число; λ — длина волны). В зависимости от свойств стенки сосуда на отражающей поверхности будет пучность давления или пучность ускорения (Angerer, 1949, рисунок).

Стоячие волны хорошо выявляются при процессах эмульгирования или при наличии в озвучиваемой водной среде эритроцитов. Капельки масла или эритроциты концентрируются в пучностях ускорения, располагаясь отдельными слоями, находящимися друг от друга на расстоянии половины длины волны. Следует подчеркнуть, что процесс эмульгирования, т. е. распыление одной из несмешивающихся жидкостей в другую, осуществляется в местах максимального переменного давления, а затем лишь образовавшиеся капельки масла отбрасываются в места, где звуковое давление равно нулю — в пучность ускорения.

Аналогичное явление имеет место и при кавитации. Образование кавитационных пузырьков происходит в пучности давления, накапливаются они в пучности ускорения (Goldmann a. Ringo, 1949, Fark, 1952).

Оказалось, что влияние ультразвука на живой организм в значительной степени зависит от того, находится ли он в пучности давления или в пучности ускорения. По данным Гольдмана и Лепешкина (Goldmann a. Lepeschkin, 1952), поражение нитей Spirogyra носит своеобразный характер, если они расположены по направлению распространения стоячих ультразвуковых волн. Только отдельные участки нити с интервалами между ними в половину длины волны подвергаются разрушению. Эти разрушения происходят в местах, соответствующих наибольшему переменному звуковому давлению. Подобные результаты авторы получали при изучении поведения в поле стоячих ультразвуковых волн одно- и многоклеточ-

ных организмов. В узлах давления или в пучностях ускорения инфузории не поражаются в течение 2 или 1,5 минуты; эти же инфузории немедленно разрушаются вблизи пучности давления.

Гемолиз эритроцитов в узлах давления наступает в течение 30—40 минут, в пучности давления этот процесс протекает в течение 4—5 минут.

По сообщению названных авторов, озвучивание биологических объектов в предварительно дегазированной воде не сопровождается их разрушением в пучности давления. Оно выявляется в пучности ускорения — в узлах давления. В узлах давления выявляется поражающее действие ультразвука и тогда, когда озвучиваемая среда недостаточно насыщена воздухом (около 5%). При этом поражающее действие в пучности ускорения тем более выражено, чем выше интенсивность ультразвука.

В пучностях давления поражение биологических объектов не наблюдается, если озвучивание последних производится в 2%-ном агаре. Аналогичные данные авторы получили при наложении больших внешних статических давлений на озвучиваемую водную среду, содержавшую нити спирогиры. При этих условиях биологическое действие ультразвука выявляется, если озвучиваемый биологический объект находится в пучности ускорения. Иными словами, мероприятия, препятствующие кавитации (дегазация, наложение высоких внешних давлений, погружение озвучиваемого объекта в гель или в вязкую среду), приводят к резкому снижению разрушительного действия ультразвука.

Тем не менее и в отсутствие кавитации обнаружен определенный биологический эффект, имеющий место в пучности ускорения или в узле давления. Это означает, что в механизме биологического действия участвуют также силы, возникновение которых связано, повидимому, с акустическим движением частиц в озвучиваемой среде. К такому выводу приводят и наблюдения других исследователей (Angerer, 1949; Angerer u. Barth, 1954). По их данным, в пучности ускорения происходят гемолиз эритроцитов и повреждение семян гороха, а в пучности давления — стимуляция роста последних. По мнению Польмана (Pohlman, 1948), значительные силы, вызываемые большими ускорениями частиц в поле ультразвуковых волн, всегда возникают в живом организме.

Имеются литературные данные, показывающие, что ускорения, сообщаемые ультразвуковыми волнами молекулам растворителя (вода, спирт и др.), столь велики, что молекулы двигаются со скоростью в 40 см/сек; крайне медленны движения крупных молекулярных комплексов. Если считать, что инерция макромолекулы велика, она в данных случаях окажет сопротивление движению жидкости. Вследствие этого возникает большая сила трения между макромолекулами и двигающимися с большой скоростью молекулами растворителя. По предположению Марка (Mark, 1945), развивающиеся силы трения в поле ультразвука могут значительно превосходить силы химических связей в макромолекуле. При таких условиях крупные молекулярные комплексы и макромолекулы могут быть расщеплены на более мелкие молекулы.

Важность учета сил трения, могущих возникнуть под действием ультразвуковых волн в гетерогенной системе, каковой являются животные, растительные и другие клетки, очевидна. Важным и принципиальным остается возможность разрушения внутриклеточных молекулярных структур при исключении явления кавитации.

Причины, вызывающие внутриклеточные изменения станут более понятны, если будет установлена зависимость биологического действия от частоты ультразвуковых волн (при условии угнетения кавитационных явлений). Известно, что переменное звуковое давление и скорость частиц при данной интенсивности ультразвука остаются постоянными и не зависят от частоты колебаний в единицу времени. Ускорение частиц (также абсорбция звуковой энергии) увеличивается с увеличением частоты, а отклонение частицы от положения равновесия, наоборот, падает с увеличением частоты

ультразвука. Кстати укажем, что отклонение частицы от положения равновесия не превышает длины, соответствующей длине волны светового спектра. Это дало основание считать, что такое отклонение частиц не может стать причиной функциональных и патологических нарушений в биологическом объекте (Barth, Pätzold u. Wachsmann, 1949).

Если допустить, что биологические реакции не зависят от частоты, то должно принять, что в основном характер и особенности биологического действия ультразвуковых колебаний определяют переменное звуковое давление или скорость движения частиц в звуковом поле. Если биологическое действие падает с увеличением частоты, то, решающим фактором является здесь отклонение частиц от положения равновесия. Если, наоборот, биологическое действие усиливается с увеличением частоты, значение приобретает ускорение частиц и явление абсорбции звуковой энергии.

* * *

Итак, бесспорным является, что бактерицидный эффект ультразвука обусловлен преимущественно явлением кавитации в суспензионной водной бактериальной среде. При этих условиях «удар» по бактериальной клетке наносится извне, независимо от того, преобладает ли здесь значение механических сил или «ядовитых» продуктов, возникающих в результате ультразвуковых кавитационных химических реакций. Совершенно очевидно научно-практическое значение этого явления. Наряду с этим, повидимому, велико значение механических сил, возникающих внутри клетки и в отсутствие кавитации. Однако не менее важным остается необходимость выяснения характера внутрибактериальных, морфологических и физико-коллоидных изменений и причин, их вызывающих. Дальнейшие исследования тонких биохимических и функциональных нарушений жизнедеятельности бактерий, животных и растительных клеток откроют новые возможности в выявлении специфических особенностей биологического действия интересующего нас физического агента.

Несомненно, перспективным является дальнейшее изучение действия ультразвуковых волн в смысле установления их способности вызывать внутриклеточные молекулярные изменения, влиять на структурообразование протоплазменных гелей, нарушать мембранные и диффузионные процессы. И на данный день уже очевидна ценность применения ультразвука как метода изучения многих сторон жизнедеятельности живого организма.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Москва

Получено 18.I.1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

Блинкин С. А., Гордина А. П., Полоцкий И. Т. и Уразовский С. С. О бактерицидном действии ультразвука на дизентерийные микроорганизмы. ЖМЭИ, 5, 72, 1946.

Доливо-Добровольский Г. Б. и Кузнецов С. И. Бактерицидное действие ультразвуковых колебаний (УЗК) в воде. Гигиена и санитария, 7, 1, 1943.

Кацнельсон Р. С. и Хенох М. А. Влияние ультразвука на дрожжи. ДАН СССР, LXXVI, 133, 1950.

Корнфельд М. Упругость и прочность жидкостей. Гос. изд-во техн. теор. лит., 1951

Косиков К. В. Генетика дрожжей и методы селекции дрожжевых культур. М., 1954.

Опарин А. И., Бардинская М. С. и Эльпинер И. Е. Действие ультразвуковых волн на дрожжевую инвертазу. ДАН СССР, XCIX, 423, 1954.

Опарин А. И., Гельман Н. С. и Эльпинер И. Е. Изучение ферментов в клетках Endomyces magnusii при помощи ультразвуковых волн, ДАН СССР, XCVI, 537, 1954.

Опарин А. И., Гельман Н. С. и Эльпинер И. Е. Обнаружение инвертазы у Saccharomyces globosus 349 при помощи ультразвуковых волн. ДАН СССР. XCVII, 293, 1954а.

Опарин А. И. и Юркевич В. В. Об адсорбции ферментов дрожжевыми клетками. ДАН СССР, LXVI, 247, 1949.

Рубан Е. Л. О применении ультразвуковых волн в микробиологии. Микробиология, XXII, 23, 1953.

Скард И. Об исследованиях механизма действия ультразвука на микроорганизмы. Изв. АН Латв. ССР, 2, (67), 49, 1953.

Скард И. и Строд Е. Зависимость от температуры вызываемых ультразвуком повреждений клеток кишечных бактерий. Изв. АН Латв. ССР, **6**, (71), 101, 1953.
Эльпинер И. Е. Ультразвуковые волны в микробиологии. Микробиология, XXI, 228, 1952.
Эльпинер И. Е. О биологическом действии ультразвуковых волн. Журн. общ. биологии, XV, 18, 1954.
Эльпинер И. Е., Блюменфельд Л. А. и Красовицкая С. Э. Распад порфиринового ядра под действием ультразвуковых волн. ДАН СССР, LXXIX, 495, 1951.
Эльпинер И. Е. и Герасимова А. В. Действие ультразвуковых волн на деполимеразу дезоксирибонуклеиновой кислоты. ДАН СССР, LXXXVI, 797, 1952.
Эльпинер И. Е. и Кац Ц. Б. Действие ультразвуковых волн на пуриновые и пиримидиновые основания. ДАН СССР, LXXXII, 611, 1952.
Эльпинер И. Е. и Колесникова М. Ф. О процессах окисления и восстановления иода в поле ультразвуковых волн. ДАН СССР, LXXV, 837, 1950.
Эльпинер И. Е. и Сурова М. Д. Влияние четыреххлористого углерода на распад сахарозы в поле ультразвуковых волн. ДАН СССР, XC, 1083, 1953.
Эльпинер И. Е. и Сурова М. Д. Ускорение процессов распада белков в поле ультразвуковых волн. ДАН СССР, XCIX, 243, 1954.
Эльпинер И. Е. и Шейнкер А. П. Получение ультразвуковыми волнами эндотоксинов (культуры палочки коклюша). Бюлл. эксперим. биол. и мед., 7, 51, 1946.
Angerer O. A. Zur Frage der wirksamen Komponente von Ultraschall. Naturwiss., **36**, 217, 1949.
Angerer O. A. u. Barth G. Über den Wirkungsmechanismus biologischer Ultraschallreaktionen. VII. Mitteilung. Untersuchungen in stehenden Ultraschallfeldern. Strahlentherap., **93**, 473, 1954.
Barth G., Pätzold J. u. Wachsmann F. Über den Wirkungsmechanismus biologischer Ultraschallreaktionen. I. Mitteilung. Möglichkeiten zur Klärung des Wirkurgsmechanismus. Strahlentherap., **80**, 305, 1949.
Beckwith T. D. a. Weaver C. E. Some energy as a lethal agent for yeast and bacteria. J. Bact., **32**, 361, 1936.
Caselitz T. H. Ultraschall-Wirkung bei Bakterien der Salmonella-Gruppe. Z. Hyg., **133**, 113, 1951.
Cerny A., Liechti A. u. Wilbrandt W. Untersuchungen über Strahlenhämolyse. 4. Mitteilung. Hämolyse durch Ultraschall. Strahlentherap., **72**, 202, 1942.
Dognon A. u. Simons T. J. Über die Ultraschallhämolyse. Strahlentherap., **89**, 152, 1952.
Fark H. Thermische u. lytische Wirkungen des Ultraschalls. Frequenz, **6**, 255, 1952.
Füchtbauer H. u. Thesmann H. Zur Wirkung des Ultraschalls auf Bakterien. Naturwiss, **36**, 346, 1949.
Goldmann D. E. a. Lepeschkin W. W. Injury to living cells in standing sound waves. J. Cell. a. Comp. Physiol., **40**, 255, 1952.
Goldmann D. E. u. Ringo G. R. Determination of pressure nodes in liquids. J. Acoust. Soc. Amer., **21**, 270, 1949.
Grabar P. et Royer M. La desintegration des microbes par les ultrasons. Ann. Inst. Pasteur, **71**, 154, 1945.
Grabar P., Voinovitch J. et Prudhomme R. Action des ultrasons sur une oxydase. Biochem., Biophys. Acta, **3**, 412, 1949.
Grün L. u. Stelter J. Zur Keimabtötung durch Ultraschall. Funk u. Ton, 8, 333, 1954.
Harvey E. N. The effect of high frequency sound waves on heart muscle and other irritable tissues. Amer. J. Physiol., **91**, 284, 1930.
Hesselberg J. Investigations on the effect of ultrasonics on bacteria. Trans. of the 10 Scandinavian Congress of Pathol. a. Bacteriol., 389, 1952.
Hompesch H. Biochemische Untersuchungen über die Ultraschalleinwirkung auf Bakterien. Ztbl. Bakt., **159**, 5, 1953.
Horton J. P. The effect of intermolecular bound strength on the onset of cavitation. J. Acoust. Soc. Amer., **25**, 480, 1953.
Knapp W. Die Wirkung von Ultraschall auf Typhus-Bakterien. Arch. Hyg., **136**, 319, 1952.
Loiseleur J. Sur le mode d'action des ultrasons sur les microbes. Ann. Inst. Pasteur, **71**, 378, 1945.
Mark H. Application of ultrasonics in high polymer research. J. Acoust. Soc. Amer., **16**, 183, 1945.
Pohlman R. Die Ultraschalltherapie. Quantitative Angaben zu ihrem Wirkungsmechanismus. Dtsch. med. Wschr., **73**, 373, 1948.
Stumpf P. K., Green D. E. a. Smith F. W. Ultrasonic desintegration as a method of extracting bacterial enzyms. J. Bact., **51**, 487, 1947.
Theismann H. u. Wallhaüser K. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an beschallten Bakterien. Naturwiss, **37**, 185, 1950.
Veltman G. u. Woeber K. Beitrag zur bakteriziden Wirkung des Ultraschalls. Strahlentherap., **79**, 587, 1949.
Warnecke B. Bakteriologische Ultraschallstudien. Z. Hyg., **138**, 17, 1953.
Zapf K. Licht- und elektronenoptische Untersuchungen über die Ultraschallwirkung auf Bacterium coli unter Penicillineinfluß. Ztbl. Bakt., **159**, 436, 1953.

КРИТИКА

Э. Бирстехер. **Нефтяная микробиология.** E. Beerstecher. **Petroleum Microbiology. An introduction to microbiological petroleum engineering.** Elsevier press, JNC Houston, 1954, New York, 375.

В настоящее время отдельные области науки настолько сцециализировались, что имеется большая потребность по составлению сводок по смежным областям науки,— казалась бы, далеко отстоящим друг от друга.

Подобного рода сводку микробиологических данных в области нефтяной геологии и промышленности представляет собой книга Бирстехера.

«Нефтяная микробиология», как указывает автор, предназначается для микробиологов, инженеров-нефтяников и геологов, работающих в области разведки нефтяных месторождений.

Книга состоит из 11 глав текста и указателей, всего 375 страниц.

В введении (глава I) автор дает краткую историю развития нефтяной микробиологии. Основные открытия в этой области суммированы в виде хронологической таблицы.

Книга имеет три раздела. Первый раздел (главы II—V) посвящен обзору научно-исследовательских работ в области генезиса и разрушения нефти микроорганизмами.

Этот раздел нефтяной микробиологии состоит из четырех глав. В первой главе автор останавливается на круговороте веществ в природе и роли микроорганизмов в геологических процессах. Начинается глава с общего введения, где излагаются основные положения исторической геологии, геохимии и учения о происхождении жизни с ссылкой на работы Вернадского и Опарина. Далее, переходя к биогеохимии кальция и кремния, автор посвящает несколько страниц микропалеонтологии и микропалеоэкологии. В книге приводится ряд фотографий ископаемых микроорганизмов.

В таком же разрезе рассматривается роль микроорганизмов в биогеохимии железа, серы, азота, фосфора и углерода.

Наиболее интересным и оригинальным в этой главе является изложение микропалеонтологии и экологии. Слабее изложены вопросы круговорота вещества в природе. Так, в главе о круговороте железа нет упоминания о работах Перфильева об образовании железных руд.

В главе о круговороте кальция и железа не упоминаются работы Страхова, отрицающего роль микроорганизмов в образовании осадков карбоната кальция и железных руд.

Вторая глава этого раздела посвящена роли микроорганизмов в синтезе углеводородов и происхождении нефти. Излагаются теории происхождения нефти, геологическая обстановка залегания основных нефтематеринских пород, приводится ряд анализов углеводородов, извлеченных из пород и растительных материалов.

Далее описываются условия внешней среды, с которой соприкасаются микроорганизмы в глубине океана или в глубоколежащих пластах земли. Описываются опыты, в которых в результате деятельности микроорганизмов при распаде органических веществ были получены углеводороды.

В конце главы, ссылаясь на работы Цобелла, автор приводит возможную с термодинамической стороны схему образования углеводородов из жирных кислот через окисление углеродного атома в β-положении, дальнейшее декарбоксилирование оксикислоты и восстановление образовавшегося кетона.

В заключение, сопоставляя существующие теории образования нефти, автор приходит к выводу, что роль микроорганизмов доказана еще недостаточно. Нужно еще много поработать, чтобы с уверенностью говорить о значении деятельности микроорганизмов в образовании нефти.

Нужно сказать, что эта глава написана с полным знанием существа дела. Нельзя не согласиться с автором, что наиболее доказанной роль микроорганизмов является лишь в первичном разложении органических веществ с образованием восстановленных продуктов.

Нужно отметить, что в этой главе о происхождении нефти сравнительно слабо освещена точка зрения русской геологической школы Архангельского и Губкина.

Третья глава этого раздела посвящена вопросам, связанным с разрушением нефти и углеводородов за счет деятельности микроорганизмов. В начале излагаются теоретические соображения о ходе процесса и промежуточных продуктах окисления нефти в аэробных условиях. Широко интерпретируются работы В. О. Таусона и то, что было сделано после него.

Автор подробно описывает питательные среды и методы культивирования многих видов бактерий, окисляющих газообразные, жидкие и твердые углеводороды. Приводится ряд графиков, из которых видно, как сказываются на развитии указанных видов бактерий добавки пептона, изменения условий кислотности и окислительного потенциала среды, температура развития, густота посева и т. п.

Дается сводка работ по определению активности указанных групп бактерий путем применения манометрических методов измерений, начиная от простой установки Зенгена и до последних работ с использованием аппарата Варбурга.

Специальный раздел этой главы посвящен условиям выделения чистых культур аэробных и анаэробных организмов, окисляющих углеводороды. Приводится список, состоящий примерно из 75 видов, и отдельно дается обзор каждой систематической группы.

Далее автор дает список индивидуальных углеводородов, разрушаемых микроорганизмами, и указывает, что разложение их может идти по трем путям: 1) частичное окисление молекулы, с образованием кислот, спиртов и альдегидов; 2) перевод в органические вещества тела организма и 3) полное окисление до углекислоты.

Глава эта является одной из основных в книге Бирстехера. Она дает хорошее обобщение фактического материала, помещенного в специальной американской и зарубежной литературе, которая в значительной мере оставалась у нас малодоступной. Хорошо использована и наша отечественная литература. Показана роль микроорганизмов в круговороте углеводородов в природе. Глава подводит как бы теоретическую базу под дальнейшие исследования прикладного характера в области переработки и добычи нефти.

Четвертая глава посвящена применению микробиологических методов разведки нефтяных и газовых месторождений.

В основу кладется ответная реакция микроорганизмов, окисляющих углеводороды, на диффузию газов из залежи к земной поверхности.

Методы основаны или на учете количества бактерий, окисляющих углеводороды в подпочвенных слоях, или на учете интенсивости развития культур бактерий за счет диффузии естественного газа, или, наконец, на учете интенсивности потребления газообразных углеводородов образцами почвы из испытуемого района. Автор оттеняет перспективность этой области нефтяной микробиологии.

Глава эта написана, пожалуй, слабее других. Очевидно, в этой области наши последние советские работы оставались автору неизвестными, в то время как у нас в Союзе микробиологические методы разведки на нефть применяются с бо́льшим успехом, чем за рубежом.

Второй раздел книги (главы VI—VIII) посвящен влиянию деятельности микроорганизмов на величину добычи нефти при разработке нефтяных месторождений.

Первая глава этого раздела посвящена деятельности микроорганизмов в глинистом растворе. Американцы в глинистый раствор, употребляемый для выноса размельченной породы при бурении скважин, вводят органические коллоиды, в частности крахмал.

Приводится ряд исследований, в которых изучались методы подавления деятельности микроорганизмов, разрушающих органические коллоиды.

Эта глава имеет большое практическое значение и для нас, так как у нас по глинистому раствору при бурении скважин ведется в ряде случаев газовый кароттаж. Наличие же здесь органических веществ и микроорганизмов может в корне извратить данные газового кароттажа.

Вторая глава этого раздела рассматривает влияние микроорганизмов на вторичную добычу нефти. Автор останавливается на роли отдельных видов микроорганизмов в изменении проницаемости пород для нефти. Закупорку пор в пласте при закачке воды в скважины для поднятия пластового давления и вытеснения остаточной нефти могут производить организмы, осаждающие гидраты окислов железа, сульфиды железа и карбонаты кальция. Автор дает сводку работ по подавлению указанных групп организмов в условиях пласта.

Автор также указывает на предложения увеличить отдачу нефти путем использования некоторых сульфатредуцирующих бактерий, способных изменять вязкость нефти. Но применимость этого предложения не была подтверждена ввиду отсутствия полевых испытаний.

Эта глава дает хорошую сводку микробиологических исследований в области вторичной добычи нефти и может быть с успехом использована и углублена нашими исследователями.

Наконец, третья глава второго раздела посвящена роли микроорганизмов в коррозии металлического и неметаллического оборудования при добыче нефти.

Основное значение имеет анаэробная коррозия за счет биологического выделения сероводорода в процессе редукции сульфатов. Цитируются работы по борьбе с этим явлением путем применения антикоррозийных покрытий глубинных насосов и другой аппаратуры.

Третий раздел книги Бирстехера (главы IX—XI) касается использования микроорганизмов в переработке нефти.

В первой главе этого раздела рассматривается стимулирующее и задерживающее влияние некоторых углеводородов на развитие микроорганизмов, в частности патогенных.

Автор приходит к выводу, что микробиология в нефтехимической промышленности имеет большое будущее.

Вторая глава третьего раздела посвящена вопросам использования микроорганизмов как реагентов при переработке нефтяных продуктов.

Сюда относится патент Таггарта по производству кислот, спиртов и эфиров за счет окисления нефтяных газов, производство витаминизированных кормов за счет наращивания бактерий или грибов на нефтяных продуктах или газах.

В последней главе рассматривается нефть и ее продукты как источник органического вещества для развития патогенных микроорганизмов и возникновения социальных заболеваний.

При составлении своей книги автор привлек к себе в помощь большое количество специалистов, перечень которых составляет две с половиной страницы текста.

Излагаемые в книге сведения вполне соответствуют современному уровню знаний. В книге хорошо освещена литература не только зарубежная, но и наша, советская. Приводится ряд данных из американских диссертаций, которые не были опубликованы в журнальной литературе и практически для нас были недоступными.

С. И. Кузнецов

ХРОНИКА

КООРДИНАЦИОННОЕ СОВЕЩАНИЕ ПО ПРОБЛЕМЕ УПРАВЛЕНИЯ ОБМЕНОМ ВЕЩЕСТВ У МИКРООРГАНИЗМОВ

Микроорганизмы широко используются в различных отраслях промышленности, в сельском хозяйстве, в медицине и ветеринарии. С каждым годом все более и более расширяется область практического применения микроорганизмов, в связи с чем перед микробиологами возникают все новые и новые задачи.

Разработанная партией и правительством программа крутого подъема всех отраслей сельского хозяйства и расширения производства предметов народного потребления на базе дальнейшего преимущественного развития тяжелой промышленности ставит перед советскими микробиологами ряд ответственных задач.

Для успешного осуществления этих задач необходимо в первую очередь направить усилия микробиологов на разработку наиболее актуальных на данном этапе для народного хозяйства вопросов. За последние годы количество микробиологических учреждений значительно возросло. Поэтому особо важное значение приобретает координация научно-исследовательской работы в области микробиологии, проводимой в различных учреждениях страны.

Среди многочисленных проблем, разрабатываемых микробиологической наукой, проблема обмена веществ микроорганизмов является одной из центральных, так как обмен веществ лежит в основе всех важнейших жизненных процессов микробной клетки — роста, развития, изменчивости, образования различных продуктов жизнедеятельности и т. д.

Овладение процессом обмена веществ микроорганизмов дает исследователю возможность полнее и рациональнее направить, а следовательно, и целесообразнее использовать активность микроорганизмов.

Не случайно проблема «Управление обменом веществ микроорганизмов с целью интенсификации микробиологических процессов в промышленности и в сельском хозяйстве» включена в число наиболее актуальных проблем, координируемых Академией наук СССР. Этой проблеме было посвящено специальное координационное совещание, проведенное Институтом микробиологии АН СССР с 28 по 31 января 1955 г.

В данном координационном совещании приняли участие представители микробиологических учреждений академий наук всех союзных республик, филиалов АН СССР и ряда научно-исследовательских институтов министерств: Здравоохранения, Сельского хозяйства, Промышленности продовольственных товаров, Мясной и молочной промышленности, а также учреждений Академии медицинских наук и ВАСХНИЛ и др.

Основной целью совещания являлось обсуждение состояния научно-исследовательской работы в области изучения обмена веществ микроорганизмов, наметить те разделы этой проблемы, на разработку которых следует обратить особое внимание, и составить сводный план работ на ближайший период.

Совещание заслушало следующие доклады: А. А. Имшенецкого — Об очередных задачах в области изменчивости и селекции микроорганизмов; В. Н. Шапошникова — Физиология обмена веществ микроорганизмов как метод управления их активностью; М. Н. Мейселя — Основные вопросы микробиологической витаминологии; Е. Н. Мишустина — Использование деятельности почвенных микроорганизмов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур; Н. А. Красильникова — Микробы-антагонисты и их значение и Н. Д. Иерусалимского — О проекте плана совместной работы по проблеме «Управление обменом веществ микроорганизмов с целью интенсификации микробиологических процессов в промышленности и в сельском хозяйстве».

Кроме того, на совещании были заслушаны сообщения представителей микробиологических учреждений академий наук союзных республик, филиалов АН СССР и отраслевых научно-исследовательских институтов министерств о состоянии и перспективах исследований по данной проблеме.

В результате широкого обмена мнениями по затронутым в основных докладах и в сообщениях с мест вопросам совещание приняло развернутую резолюцию о состоянии и задачах научно-исследовательской работы по проблеме «Управление обменом веществ микроорганизмов с целью интенсификации микробиологических процессов в промышленности и в сельском хозяйстве» и утвердило сводный план работ по данной проблеме.

По каждой конкретной теме сводного плана указываются те учреждения, на которые возлагается выполнение данной работы.

В сводном плане предусматривается развертывание работ по трем основным разделам.

В первый раздел плана включены исследования в области получения более активных культур микроорганизмов для различных отраслей народного хозяйства.

По данному разделу намечены исследования по разработке принципов и методов наследственного изменения микроорганизмов путем направленного изменения обмена веществ, гибридизации и при помощи сильнодействующих факторов (лучистая энергия, яды и др.) с целью получения форм микробов с повышенной физиологической активностью или измененным в желательную сторону обменом веществ.

По плану предусматривается проведение исследований по получению культур, активно образующих ценные продукты: антибиотики, спирты, кислоты, ферменты, витамины (B_{12}, эргостерин, рибофлавин и др.); исследований по улучшению свойств имеющихся культур и по изысканию новых культур, необходимых для различных областей бродильной промышленности, сельского хозяйства и в других отраслях народного хозяйства, основанных на использовании микроорганизмов.

В сводный план включены также работы по выведению высокоурожайных рас кормовых микроорганизмов, способных использовать непищевое сырье.

Второй раздел сводного плана предусматривает исследования по изучению обмена веществ и физиологии развития микроорганизмов с целью интенсификации этих процессов в производстве. По этому разделу будут проводиться работы по изучению биохимизма и промежуточных ступеней обмена веществ микроорганизмов; по разработке научных основ управления развитием и жизнедеятельностью микроорганизмов в производственных условиях; по изучению биосинтеза ценных продуктов жизнедеятельности микробов: спиртов, кислот, ферментов, витаминов и др.; по выяснению путей интенсификации роста микробной массы; по интенсификации процесса различных видов брожений.

Третий раздел плана содержит исследования по использованию жизнедеятельности почвенных микроорганизмов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур.

В этом разделе плана предусматривается разработка двух кардинальной важности вопросов: 1) влияние способов обработки почвы на активность почвенных микроорганизмов и 2) повышение эффективности бактериальных удобрений.

Намечается усилить исследования по выявлению микробиологических основ окультуривания целинных и залежных земель и полупустынных и болотных почв, а также по изучению микробиологического режима при различных способах обработки окультуренных почв.

Ряд научно-исследовательских учреждений направит свои усилия на изыскание более эффективных способов приготовления и применения бактериальных удобрений и на выяснение взаимоотношений бактерий-азотфиксаторов и высшей растительности.

В принятой совещанием резолюции дается оценка современного состояния научно-исследовательской работы по проблеме управления обменом веществ микроорганизмов и намечаются мероприятия научного и научно-организационного порядка, направленные на улучшение руководства и координации исследований по данной проблеме.

В целях содействия успешному разрешению решений январского Пленума ЦК КПСС «Об увеличении продуктов животноводства» совещание рекомендовало особое внимание обратить на разработку следующих вопросов:

1. Изучение микробиологических процессов в связи с освоением целинных и залежных земель. Исследования в этой области должны быть усилены в академиях наук Казахской и Узбекской ССР, а также в Западно-Сибирском филиале АН СССР.

2. Изыскание дополнительных источников белкового и витаминного питания для нужд животноводства и птицеводства. Для этого должны быть расширены исследования по получению кормовых дрожжевых препаратов на непищевом сырье (АН УзбССР, Восточно-Сибирский филиал АН СССР и др.).

3. Во всех микробиологических учреждениях академий наук союзных республик и филиалов АН СССР и в ряде учреждений министерств должны изыскиваться эффективные способы применения микробов для консервирования и повышения питательной ценности кормов для животноводства.

Совещание отметило, что существующие методы координации научно-исследовательской работы нельзя признать удовлетворительными, так как они носят преимущественно формальный характер.

Проведенное Институтом микробиологии АН СССР координационное совещание безусловно является мероприятием весьма полезным. Однако и организаторы совещания, и участники его рассматривают это совещание только как первые шаги в деле организации подлинной координации исследований по проблеме управления обменом веществ микроорганизмов и как первую скромную попытку по объединению всех работающих по данной проблеме.

От Института микробиологии АН СССР в первую очередь, от микробиологических учреждений академий наук союзных республик и от научно-исследовательских институтов министерств потребуется дальнейшая настойчивая, систематическая работа по закреплению установленной научной связи и по изысканию новых, более действенных форм координации их деятельности.

Имеющийся опыт по координации научной деятельности говорит о том большом положительном значении, которое имеет личный контакт между руководящими работниками головных институтов с научными работниками периферии. Поэтому совещание

рекомендует шире практиковать командирование руководящих научных работников головных институтов на места для оказания конкретной помощи научным работникам периферийных учреждений. Несомненно, что весьма полезным будет систематическое заслушивание в головном институте отчетов научных работников периферийных учреждений о результатах работы по конкретным разделам сводного плана.

В резолюции совещания указывается на целесообразность созыва академиями союзных республик региональных совещаний по актуальным для них вопросам микробиологии, с участием в этих совещаниях руководящих работников головных институтов.

Совещание рекомендовало научным работникам учреждений академий наук союзных республик и филиалов АН СССР усилить научную помощь действующим в их республиках и краях производствам, основанным на использовании микроорганизмов. Для эффективности координационной работы большое значение имеет срок созыва координационных совещаний.

Весьма неудачным следует признать созыв данного координационного совещания в конце января. К этому сроку планы научно-исследовательской работы на 1955 г. у всех учреждений, участвовавших в совещании, были давно сверстаны и утверждены соответствующими директивными органами. Поэтому внести в них изменения существенного порядка оказалось невозможным. Принятый совещанием сводный план фактически будет служить основой для составления планов на последующий год. Срок созыва координационных совещаний, как правило, должен предшествовать периоду составления планов на очередной год.

В текущем 1955 г. будет разрабатываться план научно-исследовательских работ на очередную, новую пятилетку. Необходимо при разработке сводного пятилетнего плана по проблеме управления обменом веществ микроорганизмов учесть положительные и отрицательные стороны проведенного первого координационного совещания по данной проблеме.

Я. И. Раутенштейн

Е. А. ШТЕРН

В середине 1954 г. после непродолжительной тяжелой болезни скончалась Екатерина Александровна Штерн.

Е. А. Штерн окончила I Ленинградский медицинский институт в 1923 г. и в течение ряда лет работала в качестве врача-рентгенолога, опубликовав несколько работ в этой области.

Интерес к действию излучений на биологические объекты привел Екатерину Александровну в 1927 г. в микробиологическую лабораторию Института рентгенологии и радиологии, где она вскоре заняла место старшего научного сотрудника. В этой лаборатории ею были выполнены систематические исследования по действию рентгеновского облучения на различные микроорганизмы и ряд работ о влиянии эманации радия на азотобактер. Эта серия работ легла в основу ее докторской диссертации «Азотобактер, его радиорасы и применение их для повышения урожая злаков».

С началом Великой Отечественной войны Е. А. Штерн была призвана в ряды Советской Армии и заведывала лабораториями в госпиталях Ленинградского и I Белорусского фронтов.

По окончании войны Екатерина Александровна работала почти до самой своей смерти в отделе микробиологии Института экспериментальной медицины, где провела весьма интересные и ценные исследования по сравнительному изучению серологических свойств разных видов и рас клубеньковых бактерий. К сожалению, накопленный Екатериной Александровной обширный материал, который подготовлялся к выпуску в виде монографии, ей удалось опубликовать лишь в сжатой журнальной статье. Последняя работа Е. А. Штерн была посвящена проблеме фильтрующихся форм бактерий и выполнена с культурами гемолитических стрептококков с применением количественных методов и с большой тщательностью и точностью, которые характеризовали всю работу Екатерины Александровны.

Е. А. Штерн была широко образованным и требовательным к себе научным работникам. Она охотно делилась своими знаниями с молодыми товарищами.

В лице Е. А. Штерн мы потеряли сведущего, добросовестного и ценного научного работника, много давшего советской науке.

Группа товарищей

БИБЛИОГРАФИЯ

ИНОСТРАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

(1952—1953 гг.)

(Продолжение, см. т. XXIV, вып. 2, 1955)

McKinney R. E. Staining bacterial polysaccharides. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 453—454.
Mason J. H. Isolation of anaërobic bacteria by a modified shake method. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 263—264.
Murray R. G. E. and Wyckoff R. W. G. A method of obtaining comparable specimens for both light and electron microscopy. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 242—244.
Novelli A. New method of staining of bacterial capsules in films and sections. Exper., 1953, vol. 9, fasc. 1, p. 34.
Pardee A. B. and Schwerdt C. E. A simplified method of determining the sizes of viruses in impure preparations. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 40, No. 2, p. 381—389.
Payne W. J., Gagan S. J. and Pollard A. L. Comparative methods for the study of bacterial polysaccharides. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 446—448.
Pflug I. J. and Esselen W. B. Development and application of an apparatus for study of thermal resistance of bacterial spores and thiamine at temperatures above 250° F. Food Technol., 1953, vol. 7, No. 6, p. 237—241.
Pikulska H. Porównanie i ocena liczenia bakterii metodą płytkowa i kropelkową. Acta microbiol. Polonica, 1953, vol. 2, No. 1, p. 3443.
Pomales-Lebron A. and Fernandez C. A method for estimating the number of bacteria in liquids and tissues. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 837—840.
Prouty C. C. and Genn W. A plate culture technique for the quantitative determination of Leuconostoc citrovorum in cultured buttermilk with observations on the progressive changes in numbers during the fermentation process. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 6, p. 564.
Putigam F. und Steineck O. Zur Herstellung von Kartoffelnährböden. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1952, Bd. 158, H. 7/8, S. 551—555.
Recent advances in microbiological methods. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4351, p. 507—509.
Reichert F. Beschreibung eines technisch einfachen Nähragar-Regenerationsverfahrens für die Großproduktion. Dazu Hinweis auf die allgemeine Verwendbarkeit eines fleischfreien Leguminose-Nahragars in der bakteriologisch-kulturellen Diagnostik. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1953, Bd. 159, H. 3, S. 219—226.
Reinbold G. W., Swern M. and Hussong R. V. A plating medium for the isolation and enumeration of enterococci. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 1, p. 1—6.
Roane C. W. A method of preparing fungi for cytological studies. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 9, p. 480.
Rook J. J. and Bruckman H. W. L. On the suitability of gelatin for plate cultures. II. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 4, p. 354—362.
Scaletti J. V., Cleverdon R. C. and Newcomer E. H. Orcein stain for bacterial chromatinic material. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2, p. 183—186.
Schäfer W. Keimzählung mit Zählnetz-Stempel. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1953, Bd. 159, H. 3, S. 217—218.
Schäfer W. Zur variationsstatischen Auswertung des Teilstichproben-Verfahren der Keimzahlbestimmung. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1953, Bd. 159, H. 6/7, S. 454—468.
Scherr G. H. A nephelometric technique for large cultures. Mycologia, 1952, vol. 44, No. 4, p. 575—577.
Schmager A. Die Brauchbarkeit des Diamoss G-Agars. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1952, Bd. 158, H. 7/8, S. 555—556.
Schmid E. E., Chapman E. D. and Velaudapillai T. A new medium for enteric bacteriology (Kligler — Christensen combined). Ztschr. Hyg., 1953, Bd. 136, H. 1, S. 115—118.
Skerman V. B. D. A chemical analysis of brewer's medium for the aërobic culture of anaërobes. Austral. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 2, p. 276—299.
Skinner F. A., Jones P. C. T. and Mollison J. E. A comparison of a direct- and a plate-counting technique for the quantitative estimation of soil microorganisms. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3-4, p. 261—271.

Stanton W. R. A simple chamber for use in aseptic microdissection. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3—4, p. 243—244.
Stolp H. Über das scheinbare Versagen des Tetrazoliumtestes bei Bacterium coli. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 17, H. 2, S. 209—212.
Taschdjian C. L. A simply prepared identification medium for Candida albicans. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 3, p. 474—475.
Tronnier E. A. Zur Darstellung der Nukleoide bei Bakterien mit Azur-Eosin. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 19, S. 511—512.
Turner J. N. Measurement of mould growth on solid substrates. Trans. Brit. Mycolog. Soc., 1953, vol. 36, part 2, p. 159—162.
Turner-Graff R. An effective use of petri dishes for microcultures. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 31—35.
Valentine R. C. and Bradfield J. R. A new procedure for bacterial viability counts and its biophysical applications. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4359, p. 878.
Wallace R. H. A direct method for counting bacteria in feces. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 593—594.
Wallhäußer K. H. Vitalfärbung von Bakterien. Wirkungsmechanismus der Antibiotica-Zellteilungsvorgänge (Vitalfärbung). Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1952, Bd. 158, H. 3/4, S. 358—362.
Weaver E. A. Cordon T. C. and John H. J. Closure for culture bottle. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 2, p. 307—309.
Webley D. M. A simple method for producing microcultures in hanging drops with special reference to organisms utilizing oils. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 1, p. 66—71.
Weibull C. Observations on the staining of Bacillus megaterium with triphenyltetrazolium. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 137—139.
Weiss F. and Oteifa B. A. Preservation of cultures of microorganismus under oil seal. Phytopath., 1953, vol. 43, No. 7, p. 407.
Westphal O., Lüderitz O. und Bister F. Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser. Ztschr. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 3, S. 148—155.
White W. L. and Darby R. T. A refrigerator cabinet for fungal cultures. Mycologia, 1952, vol. 44, No. 4, p. 578—582.
Williams R. E. O. Investigations into a method for counting the total number of bacteria in a suspension. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1-2, p. 89—97.
Wisłocki St. Liofilizacja. Acta microbiol. Polonica, 1953, vol. 2, No. 1, p. 14—33.
Wynne E. S. and Mehl D. A. Influence of age of serum on microbiological response. Science, 1953, vol. 117, No. 3033, p. 153—155.
Yagi K. Simplified lumiflavin method for the micro-determination of flavin compound in bacteria. Jap. J. Exp. Med., 1951, vol. 21, No. 4, p. 353—360.

II. СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

а. Почвенная микробиология, бактериальное удобрение

Agnihothrudu V. Soil conditions and root diseases. VIII. Rhizosphere microflora of some of the important crop plants of South India. Proc. Ind. Acad. Sci., Ser. B., 1953, vol. 37, No. 1, p. 1—13.
Aleem M. I. H. Counting of Azotobacter in soils. Plant and Soil, 1953, vol. 4, No. 3, p. 248—251.
Allen M. B. and Niel C. B. Experiments of bacterial denitrification. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 3, p. 397—412.
Bakerspigel A. and Miller J. J. Comparison of oxgall, crystal violet streptomycin, and penicillin as bacterial growth inhibitors in platings of soil fungi. Soil Sci., 1953, vol. 76, No. 2, p. 123—126.
Balicka N. Wpływ siewu mieszanego koniczyny z tymotką na mikroflorę ich rhizosfery. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 1, p. 58—64.
Balicka N. Wpływ szczepienia roślin niemotylkowych azotobakterem. Roczniki nauk rolniczych, 1952, t. 66, zes. 1, s. 185—186.
Barghoorn E. S. Degradation of plant tissues in organic sediments. J. Sedimentary Petrol., 1952, vol. 22, No. 1, p. 34—41.
Bharucha F. R. and Sheriar K. C. An improved technique for estimating the nitrifying capacity of soils. Proc. Ind. Acad. Sci., Ser. B., 1952, vol. 35, No. 1, p. 28—32.
Borrero A. P. Contribucion a la inoculacion bacteriana de semillas de soya. Acta Agron. Colombia, 1952, vol. 2, No. 1, p. 53—72.
Bounameaux Y. Influence de la nature du milieu de culture sur l'isolement de germes staphylolytiques et staphylostatiques à partir du sol. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 7—8, p. 716—719.
Bromfield S. M. Sulphate reduction in partially sterilized soil exposed to air. J. gen Microbiol., 1953, vol. 8, No. 3, p. 378—390.

Burges A. and Fenton E. The effect of carbon dioxide on the growth of certain soil fungi. Trans. Brit. Mycolog. Soc., 1953, vol. 36, part 2, 104—108.
Burrichter E. Beiträge zur Beurteilung von Böden auf Grund fluoreszenzmikroskopischer Untersuchung ihrer Mikroflora. Ztschr. Pflanzenernähr. Bodenkunde, 1953, Bd. 63 (108), H. 2, S. 154—171.
Burton J. C. Host specificity among certain plants in the cowpea cross-inoculation group. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1952, vol. 16, No. 4, 356—358.
Burton J. C., Allen O. N. and Berger K. C. The prevalence of strains of Rhizobium phaseoli in some midwestern soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1952, vol. 16, No. 2, p. 167—170.
Chalvignac M. A. Mesure des pouvoirs amylolytique et protéolytique des terres en aérobiose. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 4, p. 816—818.
Chase F. E. and Gray P. H. H. Use of the Warburg respirometer to study microbial activity in soils. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4350, p. 481.
Chichilo P. P. and Whittaker C. W. Trace elements in agricultural slags. Agron. J., 1953, vol. 45, No. 1, p. 1—5.
Chinn S. H. F. A slide technique for the study of fungi and actinomycetes in soil with special reference to Helminthosporium sativum. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 6, p. 718—724.
Cohen A. L. The isolation and culture of opsimorphic organisms. I. Occurrence and isolation of opsimorphic organisms from soil and culture of Acrasieae on standard medium. Ann. New. York Acad. Sci., 1953, vol. 56, art. 5, p. 938—943.
Collins F. M. The occurrence of Azotobacter in two South Australian soils. Austral. J. Exper. Biol., 1952, vol. 30, part 6, p. 587—595.
Colmer A. R. The action of 2,4-D upon the Azotobacter of some sugarcane soils. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 4, p. 184—187.
Connell T. D. A survey of bacteria antagonistic to Pythium arrhenomanes in Louisiana sugarcane soils. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 9, p. 464.
Contois D. E. Microflora of the pineapple plant. Soil Sci., 1953, vol. 76, No. 4, p. 259—272.
Coppier O. et Barjac H. De la richesse d'un sol en microorganismes nitrificateurs. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 1, p. 118—125.
Coppier O. et Pochon J. Pouvoir ammonifiant réel et potentiel du sol dans ses rapports avec la microflore. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 3, p. 200—206.
Corpe W. A. Variation in pigmentation and morphology of colonies of gelatinous strains of Chromobacterium species from soil. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 470—477.
Dasth P. Action de l'hydrazide maléique sur le développement de l'Azotobacter et du Cytophaga. C. R. Soc. Biol., 1952, t. 146, No. 11-12, p. 849—852.
DeBarjac H. Les acides humiques dans la préparation de milieux pour l'étude écologique de la microflore des sols acides. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 2, p. 279—281.
De Barjac H. La puissance denitrifiante du sol. Mise au point d'une technique d'évaluation. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 2, p. 207—212.
De Barjac H. et Pochon J. Titrage du pouvoir ammonifiant de la microflore des sols. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 1, p. 82—89.
Depoux R. Sur l'utilisation des antibiotiques pour l'isolement en culture pure des Azotobacter à partir de la terre. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 3, p. 645—647.
Dobbs C. G. and Hinson W. H. A widespread fungistasis in soils. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4370, p. 197—199.
Duchon F. Očkováním osiv motýlokvětých roślin ke zvýšeni sklizně a jakosti. Za socialist. zemědelstvi, 1953, t. 3, No. 3, p. 269—273.
Duba J. i Pędziwilk F. Wpływ preparatu 2,4 D i dwunitrokrezolu na mikroflorę gleb. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 3, p. 193—204.
Duba J., Pędziwilk F. Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin. Roczniki nauk rolniczych, 1952, t. 66, zes. 1, s. 187.
Eales C. E. and Turner A. W. Description of Clostridium botulinum type D recovered from soil in South Australia. Austral. J. Exper. Biol., 1952, vol. 30, part 4, p. 295—300.
Eastwood J. D. The fungus flora of composts. Trans. Brit. Mycolog. Soc., 1952, vol. 35, part 3, p. 215—220.
Egle K. und Munding H. Hämoglobin in Pflanzen. Natur u. Volk, 1953, Bd. 83, H. 7, S. 220—226.
Ehrlich J., Anderson L. E., Coffey G. L. and Gottlieb D. Streptomyces venezuelae: soil studies. Antibiot. a. Chemother., 1952, vol. 2, No. 11, p. 595—596.
Erdman L. W. and Means U. M. Single strains and mixture of Rhizobium trifolii for inoculating true clovers. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1952, vol. 16, No. 2, p. 199—200.
Evans E. and Gottlieb D. The role of gliotoxin in the soil. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 9, p. 465—466.
Ferguson J. Factors in colonization of sclerotia by soil organisms. Phytopath., 1953, vol. 43, No. 9, p. 471.
Ferguson T. P. and Bond G. Observations on the formation and function of the root nodules of Alnus glutionsa (L) Gaerth. Ann. Bot., 1953, vol. 17, No. 65, p. 175—188.
Fisher T., Fisher E. and Appleman M. D. Nitrification by certain heterotrophic bacteria present in soil. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 596.

Gamble S. J. R., Edminster T. W. and Orcutt F. S. Influence of double-cut plow mulch tillage on number and activity of microorganisms. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1952, vol. 16, No. 3, p. 267—269.
Gamble S. J. R., Mayhew C. J. and Chappell W. E. Respiration rates and plate counts for determining effect of herbicides on heterotrophic soil microorganisms. Soil Sci., 1952, vol. 74, No. 5, p. 347—350.
Garrett S. D. Rhizomorph behaviour in Armillaria mellea (Vahl) Quél. I. Factors controling rhizomorph initiation by A. mellea in pure culture. Ann. Bot., 153, vol. 17, No. 65, p. 63—80.
Gleen H. and Quastel J. H. Sulphur metabolism in soil. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 2, p. 70—77.
Gołębiowska J. Wpływ zywienia Rh. trifolii i Rh. meliloti róznymi związkam węgla na ich aktywnośc w symbiozie z roślina. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 4, p. 327—338.
Gołebiowska J. i Wróbel T. Przydatnośc różnych podłozy do produkcji szczepionek dla roślin motylkowych. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 4, p. 313—326.
Goring C. A. I. and Clark F. E. Radioactive phosphorus and the growth and metabolic activities of soil microorganisms. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1952, vol. 16, No. 1, p. 7—9.
Gottlieb D., Siminoff P. and Martin M. The production and role of antibiotics in soil. IV. Actidione and clavacin. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 9, p. 493—496.
Grav E. A. Contamination of Azotobacter chroococcum by gram-negative bacterial rods. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4365, p. 1163.
Grossbard E. Antibiotic production by fungi on organic manures and in soil. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3-4, p. 295—310.
Hacskaylo E. Pure culture syntheses of pine mycorrhizae in Terra-Lite. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 6, p. 971—975.
Harley J. L. Associations between microorganisms and higher plants (mycorrhiza). Ann. Rev. Microbiol., 1952, vol. 6, p. 367—386.
Harley J. L. and McCready C. C. A note on the effect of sodium azide upon the respiration of beech mycorrhizas. New Phytol., 1953, vol. 52, No. 1, p. 83—85.
Harley J. L., McCready C. C. and Brierley J. K. The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of the beech. IV. The effect of oxygen concentration upon host and fungi. New Phytol., 1953, vol. 52, No. 2, p. 124—132.
Harris J. R. Influence of rhizosphere micro-organisms on the virulence of Rhizobium trifolii. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4376, p. 507—508.
Hauke-Pacewiczowa T. Szczepionki dla Galega officinalis. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 1, p. 36—38.
Hely F. W., Bonnier Ch. and Manil P. Effect or grafting on nodulation of Trifolium ambiguum. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4359, p. 884.
Hely F. W. and Bonnier Ch. Influence of soil-aggregating substances on the population of gum-producing bacteria in a loess soil. Antonie van Leeuwenhoek, 1953, vol. 19, No. 3, p. 211—224.
Hessayon D. G. Fungitoxins in the soil. II. Trichothecin, its production and inactivation in unsterilized soils. Soil Sci., 1953, vol. 75, No. 3, p. 395—404.
Hofmann Ed. u. Schmidt W. Über das Enzymsystem unserer Kulturböden. II. Urease. Biochem. Ztschr., 1953, Bd. 324, H, 2, S. 125—127.
Horvath J., Szolnoki J. and Felföldy L. Experiments to establish relationship between antibiotic properties of species of Streptomyces and their soils. Acta biol. Acad. Sci. Hungaricae, 1953, t. 4, fasc. 3-4, p. 453—470.
Isotalo A. Studies in the ecology and physiology of cellulose-decomposing bacteria in raised bogs. Acta Agralia Fennica, 1951, vol. 74, p. 1—106.
Jefferys E. G. The stability of antibiotics in soils. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3-4, p. 295—312.
Jefferys E. G., Brian P. W., Hemming H. G. and Lowe D. Antibiotic production by the microfungi of acid heath soils. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 314—341.
Jefferys E. G. and Hemming H. G. Fungistasis in soils. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4384, p. 872—873.
Jensen H. L. and Petersen H. Ingv. Detoxication of hormone herbicides by soil bacteria. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4314, p. 39—40.
Jordan D. C. Studies on the legume root nodule bacteria. III. Growth factor requirements for effective ineffective and parasitic strains. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 6, p. 693—700.
Káš V. Sovětská půdni mikrobiologie v boji za vysoké výnosy. Za socialist. zemědelstvi, 1953, t. 3, No. 3, p. 293—297.
Kauffmann J. Méthode pratique de dosage microbiologique du phosphore. Application au dosage du phosphore dans les terres. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 95, No. 2, p. 247—253.
Kauffmann J. et Boquel G. Action phosphore sur l'activité des germes nitrificateurs et dénitrificateurs du sol. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 3, p. 365—371.
Kauffmann J. et Toussaint P. Sur la cellulolyse anaérobie du sol. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 1, p. 135—138.

Kauffmann J., Toussaint P. et Boquel G. Sur le pouvoir fixateur de l'azote atmosphérique des terres de régions tropicales. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 5, p. 713—720.
Knapp und Lieth H. Über Ursachen des verstärkten Auftretens von erdbewohnenden Cyanophyceen. Arch. Microbiol., 1952, Bd. 17, H. 3, S. 292—299.
Koike H. and Gainey P. L. Effects of 2,4-D and cade, singly and in combination, upon nitrate and bacterial content of soils. Soil Sci., 1952, vol. 74, No. 2, p. 165—172.
Küster E. Abbau heterocyclischer N-Verbindungen durch verschiedene Bodenmikroorganismen. Ztbl. Bakt., Abt. 1, Orig., 1952, Bd. 158, H. 3/4, S. 350—356.
Küster E. Umwandlung von Mikroorganismen-Farbstoffen in Humusstoffe. Ztschr. Pflanzenernähr. Bodenkunde, 1952, Bd. 57, H. 1, S. 51—57.
Kuźniar K. Energia rozkładu błonnika w głebach Białowieskiego Parku Narodowego. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 3, p. 257—269.
Kuźniar K. Energia roskładu błonnika w glebach Parku Narodowego w Pieminach. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 1, p. 52—57.
Kuźniar K. O przyrodniczych podstawach obliczania drobnoustrojów w glebie. Ekologia Polska, 1953, t. 1, zes. 1, p. 57—66.
Lachance R. O. et Perrault C. Antagonisme des microorgansmes du sol envers Fusarium oxysporum f. lini, agent de la flétrissure du lin. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 5, p. 515—521.
Leclaire S. et Manil P. Extraction, par voie microbiologique, du fer libre du sol. Arch. int. Physiol., 1953, vol. 61, fasc. 2, p. 263—264.
Levisohn I. Growth response of tree seedlings to mycorrhizal mycelia in the absence of a mycorrhizal association. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4372, p. 316—317.
Likais R. Über den Einfluß des Bodens und antagonistischer Bodenmikrobe auf den Parasitismus von Pythium de Baryanum. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 18, H. 1, S. 49—100.
Lochhead A. G. Soil microbiology. Ann. Rev. Microbiol., 1952, vol. 6, p. 185—206.
Luke H. H. Fungi isolated from sugarcane soils of Louisiana and their antagonistic effect on Pythium arrhenomanes. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 9, p. 469.
Maliszewska W. Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylkowych. Acta microbiol. Polonica, 1953, vol. 2, No. 1, p. 58—69.
Masefield G. B. The nodulation of annual legumes in England and Nigeria: preliminary observations. Empire J. Exper. Agric., 1952, vol. 20, No. 79, p. 175—186.
Maška J. a. Fabián J. K otázce bakterisace semen nebo půdy Azotobakterem. Sbornik vysoké školy Zeměd. a Lesne Brno. 1952, Cislo 3-4, c. 298—306.
Melin E. and Nilsson H. Transfer of labelled nitrogen from glutamic acid to pine seedlings through the mycelium of Boletus variegatus (Sw.) Fr. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4342, p. 134.
Melin E. and Nilsson H. Transport of labelled nitrogen from an ammonium source to pine seedlings through mycorrhizal mycelium. Svensk. Bot. Tidskrift, 1952, Bd. 46, H. 3-4, p. 281—285.
Mollison J. E. Effect of paritial sterilization and acidification of soil on the fungal population. Trans. Brit. Mycolog. Soc., 1953, vol. 36, part 3, p. 215—228.
Mosse B. Fructifications associated with mycorrhizal strawberry roots. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4361, p. 974—975.
Mostafa M. A. Carbohydratic fermentation of bacterial isolates from zygophyllaceous and leguminous root-nodules. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4320, p. 276—277.
Norén B. Further notes on the distribution myxobacteria in swedish soils. Svensk Botanisk Tidskrift, 1952, Bd. 46, H. 3-4, S. 446—453.
Nowotny-Mieczyńska A. i Ruszkowska M. Wpływ azotu mineralnego na rozwój szczepionych roślin motylkowych. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 3, p. 205—222.
Nowotny-Mieczyńska A. Wpływ niektórych czynników na pigmentację brodawek roślin motylkowych. Acta microbiol. Polonica, 1952, vol. 1, No. 1, p. 42—51.
Nowotny-Mieczyńska A. Wpływ roślin motylkowych na rozwój niemotylkowych w kulturach mieszanych. Roczniki nauk rolniczych, 1952, t. 65, p. 47—70.
Nutman P. S. Studies on the physiology of nodule formation. IV. The mutual inhibitory effects on nodule production of plants grown in association. Ann. Bot., 1953, vol. 17, No. 65, p. 95—126.
Okinaga T. Microbiological studies of forest soils. I. The soil microflora of a forest of Cryptomeria japonica. J. Jap. Forestry Soc., 1952, vol. 34, No. 5, p. 156—160.
Okinaga T. Microbiological studies of ferest soils. II. The soil microflora of the forest of Thujopsis hondai. J. Jap. Forestry Soc., 1952, vol. 34, No. 7, p. 227—232.
Oxley C. D. and Gray E. A. The microbiology of four steamed soils. J. Agr. Sci., 1952, vol. 42, part 4, p. 353—361.

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

З. Г. Разумовская и Н. М. Митюшова. Влияние аэрации на размножение и окислительную деятельность Acetobacter suboxydans 265
С. В. Горюнова. Явление хищничества у синезеленых водорослей 271
Н. В. Петерсон. Выращивание клубеньковых бактерий в фильтратах других видов этих бактерий 275
А. Г. Сомова. Фильтрующиеся формы гемолитического стрептококка в бульонных культурах 280
А. А. Имшенецкий. К физиологической характеристике вариантов микроорганизмов, полученных с помощью сильно действующих факторов 285
М. В. Федоров и Т. А. Успенская. Влияние продолжительности освещения бобовых растений (гороха и сои) на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий в клубеньках 291
Г. К. Скрябин. Морфологические изменения клетки Bac. mesentericus при воздействии антибиотиков актиномицетного происхождения 303
Е. Н. Алешина и Л. Н. Макаровская. Актиномицеты как антагонисты 309
А. Г. Кучаева и С. А. Егорова. О проникновении антибиотиков в многолетние растения 315
А. И. Жукова. Биомасса микроорганизмов донных осадков северного Каспия . 321
Н. А. Мефедова. Характеристика бактерий из грунтов северо-западной части Тихого океана 325
Г. И. Журавский. Глубинный способ производства лимонной кислоты при помощи гриба Asp. niger 332
А. Г. Забродский и А. Ф. Положишник. Влияют ли жировые вещества зерна на спиртовое брожение? 341
М. Я. Калюжный, М. К. Райцева и В. А. Утенкова. Оседание дрожжей при непрерывном сбраживании гидролизатов 348
Р. Д. Зубкова. Роль дрожжей в силосовании кормов 353

Дискуссия

Т. В. Аристовская. К дискуссии по вопросам почвенной микробиологии . . 359
И. А. Геллер. О биологических факторах почвенного плодородия 364

Обзоры

И. Е. Эльпинер. О механизме действия ультразвуковых волн на микроорганизмы 371

Критика

С. И. Кузнецов.—Э. Бирстехер. Нефтяная микробиология 382

Хроника

Я. И. Раутенштейн. Координационное совещание по проблеме управления обменом веществ у микроорганизмов 385
Некролог Е. А. Штерн 387

Библиография

Иностранная литература 1952—1953 гг. 388

Т-03640 Подписано к печати 12/V 1955 г. Печ. лист. 10,96+2 вклейки
Уч.-изд. л. 13,2 Формат бумаги 70×108¹/₁₆. Бум. л. 4,0 Тираж 6000 экз. Зак. 1176

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.

ОТКРЫТА ПОДПИСКА
НА ЖУРНАЛЫ АКАДЕМИИ НАУК СССР
на 2-ое полугодие 1955 года

Название журналов	Количество номеров в полугодие	Полугодовая подписная цена
Автоматика и телемеханика	3	27
Акустический журнал	2	18
Астрономический журнал	3	27
Биохимия	3	36
Ботанический журнал	3	45
Вестник Академии наук СССР	6	48
Вестник древней истории	2	48
Вопросы языкознания	3	36
Доклады Академии наук СССР (без переплета)	18	180
Доклады Академии наук СССР (с 6 папками, коленкоровыми с тиснением)	18	192
Журнал аналитической химии	3	18
Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова	3	45
Журнал общей биологии	3	22.50
Журнал общей химии	6	90
Журнал прикладной химии	6	63
Журнал технической физики	6	90
Журнал физической химии	6	108
Журнал экспериментальной и теоретической физики	6	72
Записки Всесоюзного минералогического общества	2	24
Зоологический журнал	3	67.50
Известия Всесоюзного географического общества	3	27
Исторический архив	3	45
Коллоидный журнал	3	22.50
Математический сборник	3	54
Микробиология	3	36
Почвоведение	6	54
Прикладная математика и механика	3	36
Природа	6	42
Советское востоковедение	3	36
Советское государство и право	4	60
Советская этнография	2	36
Успехи современной биологии	3	24
Успехи химии	4	32
Физика металлов и металловедение	3	45
Физиологический журнал СССР имени И. М. Сеченова	3	36
Физиология растений	3	27
Известия Академии наук СССР:		
Отделение литературы и языка	3	27
Отделение технических наук	6	90
Отделение химических наук	3	48
Серия биологическая	3	36
Серия географическая	3	27
Серия геологическая	3	45
Серия геофизическая	3	27
Серия математическая	3	27
Серия физическая	3	36
Реферативный журнал, серии:		
Астрономия и геодезия	6	45.60
Предметный указатель к серии «Астрономия и геодезия» за 1953—1954 гг.	1	32
Биология	12	180
Геология и география	6	120
Математика	6	45.60
Предметный указатель к серии «Математика» за 1953—1954 гг.	1	32
Механика	6	45.60
Предметный указатель к серии «Механика» за 1953—1954 гг.	1	32
Физика	6	120
Предметный указатель к серии «Физика» за 1954 г.	1	78
Химия	12	216
Предметный указатель к серии «Химия» за 1953 — 1954 гг.	2	100
Биологическая химия (раздел Реферативного журнала «Химия»)	12	54

ПОДПИСКА ПРИНИМАЕТСЯ

городскими и районными отделами «Союзпечати»,
отделениями и агентствами связи, магазинами «Академкнига»,
а также конторой «Академкнига» по адресу:
Москва, Пушкинская ул., д. 23.